

が58%と、TeBGに比べて高いようですが、ABG(?)以外に結合する物質があるのでしょうか。

③ 私達は2-methoxyestradiolのTeBGとのbinding affinityが非常に高いことを認めています。TeBGとABGとの区別に2-methoxyestradiolを使用して検討載ければと思います。

回答 (山形大) 小田 隆晴

① 卵胞液内のABPと血清TeBGとのbinding affinityは先生の御指摘の様に極めて類似しております。Binding siteは血清中のTeBGの方が高いと思います。

② 私の示したのは相対的置換率で58%でしたが、E₂の結合する蛋白についてはまだ検討しておりませんが、卵腔内E₂濃度が極めて高値を示すことからE₂-binding protein(?)が存在する可能性は高いと思われます。

③ 先生の御指摘の様に今後2-methoxy-E₂やDHEA, DHAS, d-norgestrel等でそのaffinityを調べTeBGとの違いを検討したいと思います。

277. 等電点電気泳動法を用いた胎盤中のAndrogen Binding Proteinsの研究

(山形大) 金杉 浩, 小田 隆晴

川越慎之助, 広井 正彦

人胎盤中のandrogen binding protein (ABP)の分析並びにandrogen actionの標的臓器としての胎盤の意義づけを研究目的とした。血清のTestosterone-estradiol binding globulin (TeBG)の試料中への混入が問題となるが、Concanavalin A Sepharose affinity gel (Con-A)を使用することによりTeBGの影響を取ることを試みた。

満期正常分娩の胎盤よりcytosolを作製し、Con-A Sepharose adsorptionを用いCon-A Bound, Unboundに分け検討を加えた。Binding analysisは³H-Dihydrotestosterone (DHT)を使用しScatchardの方法に基づき検討した。また³H-DHTと共にインクベートした試料をpH勾配4-9の両性電解質のもと、G-15 sephadex columnを用いた特殊な装置を使用し等電点電気泳動(IEF)を行ない、各々の蛋白を等電点の差異としてとらえた。

Con-A未処理のcytosolではIEFにてpH4.6, 5.3, 6.0の3ヶ所にピークを認め、scatchard analysisでdissociation constants (Kd)が 1.5×10^{-10} Mと 3.7×10^{-9} Mの二つの成分として認められた。Con-A Boundではelution pH5.0に唯一のピークを認め、Kdの平均

は 2.17×10^{-10} M (270fmoles/mg protein: n=6)であった。Con-A Unboundではelution pH4.6と6.0の2ヶ所にピークを認め、第2ピークがより高親和性成分であると推定された。Kdの平均は 5.9×10^{-9} M (1097fmoles/mg p.: n=6)と 1.9×10^{-10} M (349fmoles/mg p.)であった。またCon-A Boundはheat stableであり、Con-A Unboundはheat labileであった。100倍量の種々のステロイドを使用したCompetitionではCon-A BoundとUnboundでは著しい差を認め、androstenedione, dehydroepiandrosterone, dehydroepiandrosterone-sulfateではCon-A Unboundにより高親和性であり、d-NorgestrelではCon-A Boundにより高親和性であった。

以上よりTeBGを除いた人胎盤中にはDHTに対して親和性の異なる、等電点の違う少なくとも二つの結合蛋白が存在するものと推定される。

278. ヒト胎盤性ACTHの精製とそのタンパク化学的性質に関する研究

(長崎大) 今村 定臣, 今道 節夫

石丸 忠之, 山辺 徹

ヒト胎盤においてACTH様物質が産生されている可能性は以前より指摘され、最近ではimmunoreactive β -LPH, β -endorphinの存在も報告されているが、その本態については不明な点が多い。そこで胎盤性ACTH様物質の単離を試み、そのタンパク化学的性質について検討を加えた。

ヒト満期胎盤のアセトン粉末より、胎盤性ACTH (Pl. ACTH)については氷酢酸-アセトン混合液で抽出後、イオン交換クロマト(CM-Cellulose), ゲル濾過 (SephadexG-75)および等電点電気泳動法により精製した。BigPl. ACTHについてはpH3.0蒸留水により抽出し、ゲル濾過 (SephadexG-75)を行ない高分子画分を得、これをトリプシン消化した。ACTH活性は市販RIA Kitにより、 β -endorphin RRAはラット脳ホモジネートをレセプターとして³H-Leu-enkephalinの結合阻害により測定した。

この結果、ヒト胎盤中には抗ACTH抗体と反応するPl. ACTH (MW<10,000)とBig Pl. ACTH (MW≈50,000)が存在することが分った。Pl. ACTHのPlは8.70で、disc電気泳動ではブタACTHのバンドと一致した。Pl. ACTHには β -endorphin RRA系において活性を認めなかつたが、Big Pl. ACTHのトリプシン消化物のうち最も低分子のペプチドは³H-Leu-enkephalinのレセプターとの結合を阻害した(阻