した。

免疫動物の腹部皮に対応抗原を注射すると、遅延性アレルギー様反応を示し、反応は抗原量に依存し、感作後5日目に最大となった。この反応を利用して異種抗原との交叉試験を行なうと、抗原間の類似性が推定できる。例えば、ムラサキウニ胚繊毛はバフンウニ胚繊毛、ムラサキウニ精子鞭毛、バフンウニ精子鞭毛の順に類似性を持っている。このことは、恐らく4種の抗原は抗原全部に類似ないしは共通の成分または構造と、2種（繊毛と鞭毛、鞭毛と鞭毛）間に共通なものおよびその抗原に特有なものが存在しているものと解釈される。

一方、免疫して得た抗血清の2倍連続希釈液を遊泳胚および精子に作用させると、精子は抗血清に対して沈降または凝集反応を示し、他種抗血清に対しても非特異的に反応した。けれども、胚の繊毛運動は対応抗血清に強く阻害され、抗精子鞭毛血清は阻害効果を示さなかった。なお、抗血清からIgG（抗体）を分画して作用させても効果は同じであった。

さらに、繊毛の抗血清に対する特異性を知るために、繊毛再生胚および交雑胚に対する抗血清の効果も調べた。1N CH_3COONa 処理後10時間目の胚の再生繊毛に対しては対応抗血清の効果はほとんど変化しなかった。バフンウニ卵とムラサキウニ精子の交雑胚の繊毛運動に対して抗バフンウニ胚繊毛血清の効果が見られ、抗ムラサキウニ胚繊毛血清の効果はほとんど認められなかったがムラサキウニ卵とバフンウニ精子の交雑胚の繊毛運動に対して両抗繊毛血清は同程度の阻害効果を示した。

ウニ卵内の freeCa と解離恒数 IV, Ca の結合蛋白の精製

中村正久・安増郁夫

(早稲田大学教育学部生物学教室)

ウニ卵内で受精にさいしての Ca の増加に関連した Ca と結合能をもつ物質がある。この物質はウニ卵のマイクロソーム分画に多い。マイクロソーム分画にある Ca と結合する蛋白質の途中までの精製方法は前回すでに報告した。今回は更にこの蛋白質を分離精製した。精製方法はマイクロソーム分画を 0.6M

KCl で 110 hrs 強く攪拌して extract し、水に対して透析して沈澱を RNase で処理し水で透析して得た沈澱を 0.6MKCl で extract したものを G-200 sephadex にかけた。これによって分離された蛋白質は 68 倍の精製度であった。この蛋白質は 0.6M KCl 中で沈降定数 2.8 S であり分子量は Gel-filtration また SDS-DAGE 法で測定すると約 35,000 であった。また硫酸により盤状の結晶が得られがこの精製蛋白質の Ca- と結合する性質はその解離恒数、Ca 濃度による解離恒数の受精卵形への変化など未精製のものとほとんど一致した。すなわち 0.3 mM の Ca の解離恒数はほぼ 1×10^{-4} 、0.5 mM 以上の解離恒数は 1×10^{-3} で Ca により解離恒数の変化を起こす。どちらの状態でも Ca と結合する基の濃度は一定であった。また解離恒数の 1×10^{-3} の値は受精卵のものと一致する。

ウニ植物極化胚の正常化物質の精製

藤原昭子・安増郁夫

(早稲田大学教育学部生物学教室)

すでに前回で報告した様に、発生中のウニ胚の特定の時期に、クロラムフェニコールを作用させると、作用させる stage に応じて、さまざまな奇型胚ができる。このうち 20°C で受精後 4 時間目の胚に、クロラムフェニコールを $4 \times 10^{-3}M$ 3~4 時間作用させると、植物極化された胚が生じる。この奇型胚に受精後 5~6 時間目のウニ胚の homogenate を投与すると、正常胚に回復する。また $\text{LiCl}_2 10^{-2} \sim 10^{-3}M$ で植物極化された胚もこの homogenate を投与すると同様に正常胚になる。この物質 (β と名づけておく) の活性の測定法は bioassay で行なった。クロラムフェニコールでできる奇型胚が 50% 正常胚に回復する時に投与した溶液濃度を 1 unit とした。この β は、homogenate の soluble の部分にあるので、約 8 l の homogenate を 6,500 rpm 60' で遠心、凍結乾燥後、約 2.5 l を 30,000 rpm 150' 遠心し、上清を凍結乾燥して 500 CC に濃縮する。これを Diaflow UM:10 でろ過する。分子量約 10,000 以下のろ液を sephadex G-10 のカラムクロマトグラフィで分離、2 回の再クロマト後、有効成分を Dowex-50 $\times$ 4 に pH 3.1 0.05N クエン酸 Buffer

で凝着させた後、pH 5.1 0.5N クエン酸 Buffer で elute, この分画を sephadex G-10 で脱塩のため 3 回クロマトグラフィーした。ウニ胚乾燥重量 860 g から、148 mg を得られた。specific activity は、Foline のタンパク測定法で約 16,000 倍、乾燥重量で約 730 倍に活性が上った。recovery は 14% であった。最終精製物質の吸収曲線は 273 nm にピークがあり、mg/ml 当り、optical pass 1 cm で O.D. 0.966 である。高圧電気泳動で pH 6.5, 1 KV, 90', 7 mA で泳動した結果、原点からマイナス側に 1 cm のところに 1 つの spot として、ニンヒドリンで検出された。アミノ酸分析は、現在分析中で十分な結果は得られていないが、5 種類のアミノ酸がある模様である。糖は検出されず、特にペントースもないので、今のところオリゴペプチドではないかと想像される。

ウニ奇型胚の RNA Base-sequence

吉見孝人・藤原昭子・安増郁夫
(早稲田大学教育学部生物学教室)

ウニの発生初期にクロラムフェニコール (Chl) を作用させると様々の奇形が生じるが、20°C で受精後 4 時間目に 2~4 時間 Chl. を作用させると植物極化した奇形胚 (B type) が生じる。Chl. 処理直後に、正常な 64 細胞期の胚から抽出した奇形正常化物質 (β) を投与すると奇形胚にはならず正常胚と同様の胚となる。奇形胚およびその回復胚での RNA 合成量は Chl. 作用時間のわずかなずれや発生進度のずれによって一定ではなく、また各胚の RNA をショ糖密度勾配によって分けたところ rRNA より重い分画での RNA 合成量の差と奇形回復との間に直接の関係が見られないということについては前大会で報告した。そのため今回は DNA-RNA hybridization (特定のステージに $^3\text{H-Uridine}$ をとり込ませてラベルした RNA に対する各ステージの cold RNA による competition) により、正常胚、奇形胚、奇形回復胚それぞれの RNA の質の比較を行なった。その結果、Swimming Blastula 時期までは正常胚、Chl. 処理胚、 β 投与胚また Li 処理胚とも RNA に質的な差が認められないが、その後 Gastrula 期までに新しい RNA が合成され、正常胚の

RNA と B type の胚の RNA は異なったものになること、B type 胚と Li 処理による植物極化胚とは RNA が非常に似かよっていること、Chl. 処理あるいは Li 処理後に β を投与した回復胚の RNA は正常胚の RNA と質的に同一になるらしいことが分った。また受精後 15 時間目の Swimming Blastula に Chl. を投与し続けると直径が増大し壁が薄くなった、動物極化胚類似の胚を生じる。この胚を海水にもどすと時間を追って腸が形成されるが、この時 RNA もしだいに Gastrula の RNA に似てくことや、この一種の動物極化した胚には、B type の胚にはないが正常胚には存在する RNA が合成されているらしいことが分った。

ウニの生殖器官形成における反口環血洞の影響

岡田 稔・小川邦子
(大阪府科学教育センター生物・
大阪教育大学生物学教室)

幼若ウニの生殖輸管原基域 (D_2) は生殖器官形成のための細胞増殖の中心を含む。 D_2 域を除去すると生殖巣の成長が抑制され生殖口・生殖口乳頭は退化する。また D_2 域を残し生殖巣・殻中輸管・乳頭を除去しても再生がおこる。一方、生殖巣に広がる血洞系は D_2 域で反口環血洞に連絡しており、反口環の切断手術で体液の流れを遮断すると、反口環と中軸器官との連絡が断たれた側で生殖巣の成長が抑制される (岡田 1971)。Stage 2, Stage 3 のバフンウニを用い、a) 第 2 と第 4 眼板下の反口環を切断して体液の流れを断ち、中軸器官に連なる側 (対照) または、b) 反対側の生殖器官 1 本を選び、 D_2 域を残し生殖巣・殻中輸管・乳頭を除去した。c) 第 2 と第 3 眼板下で反口環を切断し第 2 生殖器官を、d) 第 1 と第 5 眼板下で反口環を切断し第 5 生殖器官をそれぞれ選び、上述同様の除去実験をおこなった。手術個体は乳頭の雌雄差発生時期まで飼育した。反口環經由体液の供給が断たれた側では、生殖巣の成長も再生も抑制される。組織学的には栄養細胞中のエオシン好性顆粒の産生低下、卵母細胞の成長の抑制が著しい。これに対し、輸管および乳頭の発生や再生、乳頭におまる二次性徴の発生は、中軸器官との連絡が断たれてもおこる。再生した輸管・乳頭は