

ウニ卵分裂装置—その染色体分離の誘導

酒井彦一（東大・理・生物化学）、平本幸男（東工大・理・生物）、栗山了子（東大・理・生物化学）

The mitotic apparatus of the sea urchin egg ;
Induction of chromosome motion

HIKOICHI SAKAI, YUKIO HIRAMOTO,
RYOKO KURIYAMA

受精後第一分裂の後期に入りかけたバフンウニ卵から、グリセロール法で分裂装置または紡錘体のみを単離した。GTP, EGTA, Good の buffer, 1 M グリセロール等を含む単離溶液 (pH 6.2) 中で、5°Cに温度を下げるとき、単離分裂装置の複屈折はすみやかに消失する。一方、ブタ脳の精製チューブリンを 1 mg/ml 以上の濃度で添加すると、分裂装置にチューブリンがとり込まれ、紡錘体と星状体が 2 倍以上に大きくなると共に複屈折が増大する。通常、分裂後期の紡錘体上で染色分体間の領域の複屈折は弱いが、チューブリン添加によってその複屈折が強まり、やがて染色体系の複屈折の強さと同じ程度まで増加する。位相差顕微鏡による観察では、染色体間が不規則に伸長すると共に、染色分体と極間の長さも著しく増す。チューブリン濃度を下げて 0.5 mg/ml で作用させると、紡錘体はほとんど伸長せず、分裂装置は 1 時間以上安定に保たれる。そこで、この濃度のチューブリン存在下で単離した分裂装置分画を、イオン強度 0.07, pH 6.7 に合わせて Mg ATP (0.7 mM) を添加したところ、0.1 μm/min の速度で染色分体の両極への移動が認められた。多くの例で、極までの移動を誘導することはできないが、数 μm 程度の移動 (half spindle の中央まで) は、かなりの頻度で観察される。運動速度は温度に依存し、また、この運動系は Mg ATP に特異的である。GTP は殆んど効果がない。おそらく、微小管ダイニン系の運動機構が、染色体運動に関与していると推定される。

ウニ卵表層粒の研究、I. 表層粒の単離について

森谷常生、星元紀（北大・低温研）

Cortical granules of sea urchin I. Isolation of cortical granules

TSUNEO MORIYA, MOTONORI HOSHI

エゾバフンウニより表層粒を単離することを試みた。まず、卵内に多量に存在する卵黄粒をとりのぞくため、ウニ卵を海水と 1 M 蔗糖の密度勾配遠心にかけ、卵を遠心力によってひきちぎり、卵黄粒が密につまつた遠心分割卵と、ほとんど含まない透明な遠心卵を得た。この遠心卵を Ca^{++} free 海水、0.35 M citrate, 0.5 M KCl, 0.25 M Sucrose, 1 mM EDTA, 10 mM phosphate buffer pH 6.0 W₂—Bomb Disruption にかけ、遠心卵の破碎液を得た。これを遠心して、700×g, 8,000×g (F_3), 25,000×g (F_4), 上清 (F_5) に分けた。さらに表層粒の含んでいる 700×g の沈殿分画を 0.5 M から 2.0 M 蔗糖の密度勾配遠心にかけ、上層 (F_2)、下層 (F_1) の 2 つの分画を得た。これらの分画について表層粒の marker enzyme である β -グルカナーゼの活性と表層粒に含まれていると言われるトリプシン様活性を測定した。 β -グルカナーゼは F_2 と F_4 に活性の高まりがあり、トリプシン様活性は F_2 にあった。lysosome の marker enzyme である Acid phosphatase は F_3 に強い活性がある。これらの分画を電顕で見ると、 F_1 は卵膜様のもの、 F_2 に表層粒、 F_3 に卵黄粒、 F_4 にミトコンドリアと小胞、 F_5 に無定形な物質が認められた。 F_2 の電顕所見は表層粒に特有な spiral lamella も compact structure もみとめられ、正常未受精卵の表層粒の所見と一致している。また、この表層粒分画に Triton X を処理すると β -グルカナーゼおよびトリプシン様活性が溶出する。20 mM Ca^{++} を加えてもこれらの酵素は溶出する。以上のことから、ウニ卵から表層粒を無傷な状態でとり出すことが出来たと考えられる。