

先体反応 I. ヒトデゼリーの精子凝集因子の分離 宇野洋子, 星元紀 (北大・低温研)

Acrosome reaction I. Isolation of the sperm agglutinating factor of a starfish, *Asterias amurensis*

YOHKO UNO, MOTONORI HOSHI

ヒトデ卵から遠心法で得たゼリーは, Sephadex G 100 により 3 つ (I, II, III) の分画にわけられ, I は先体反応を誘起し, II は精子凝集を誘起する。I はさらに Sepharose 4 B で 2 つ (I-1, I-2) にわけられる。

ヒトデは, ウニとは異なり, シアル酸は TBA 法でタンパク 1 mg あたり 0.55 μ g と非常に少なく, pH を 5.5 に下げる事によってとったゼリーでも同じである。

ゼリーの精子凝集能は弱アルカリ処理によって失活するが, Pronase 消化では失活しない。分画 I は Pronase 消化によって II よりもわずかに大きい I-P-2 と, 低分子の peptide およびアミノ酸に消化される。I-P-2 の Glu. Asp. Thr. Ser. Gly. の合計重量パーセントは 75% で, 糖タンパクの peptide 部分が切れて, 糖との結合部分, およびその近傍のアミノ酸を含む糖鎖が遊離したと考えられる。

I-1 は Fuc. Xyl. に富み, Man. Gal. Glc. も含み M. W. 10^6 以上, I-2 はその重量の 30% がアミノ酸で, Pentose, Methylpentose は少なく, Man. が多くて M. W. は 10^5 以上, II は Pentose, Methylpentose が比較的多く, Man. は少なくて, アミノ酸は 1% 以下, M. W. は 10^4 前後である。III は透析性で 260 nm 付近に最大吸収を示し, 先体反応, 凝集反応などの生理的活性をもたない。

以上の事から, ヒトデゼリーの分子モデルを考えると, I-1, I-2, II がその構成要素で, モル比はほぼ 1 : 10 : 10 である事などから, I-1 が中心核となり, I-2, II が周囲にあって, 少なくとも II の糖鎖が外に露出していて, 精子が同種卵を認識する標識となっているのではないと思われる。

ウニ精子表面の受精関連因子 (続報)

緋田研爾 (名大・理・生物)

Isolation and preliminary characterization of sperm surface component responsible for fertilization in the sea urchin. II

KENJI AKETA

ウニ卵膜表面には精子を結合する座があり, 受精における種の識別はここでなされることを実験的に示し, またこの因子の単離を行なってきた。一方この因子 (精子結合タンパク) と相補的關係にある因子が精子表面に存在することを予想し, おそらくはこの因子と考えられるものの単離を行なった。パフソウニ精子を等張食塩水でよく洗い, TCA 抽出をしてその上清を中和後, 酢酸存在下でエタノール沈澱を行ない, この沈澱をさらに Ca で分画する。Ca 可溶分画を海水に溶かしたものでパフソウニ卵を前処理すると, この卵は精子結合能を失う。一方ムラサキウニ卵やアカウニ卵には全く効かない。この物質を Sephadex G 200 でゲル濾過すると, void に近く出る分画 (A) と, これに少しおくれる分画 (B) とに分れ, 卵の精子結合をうばう作用は分画 (A) にみられる。分画 (B) は 260 m μ に最大吸収を持つことから核酸と考えられる。(A) をさらに ECTEO-LA-セルローズ (0.1 M Tris-HCl, pH 7.2) で食塩勾配 (4 M まで) にかけて, 初期に溶出する分画 (α) と, どうしても溶離せず 0.2 N KOH ではじめて溶出する分画 (β) に分れる。それぞれについて bioassay すると, 求むる因子は分画 (β) にある。この分画を Sepraphore III で泳動すると (ピリジン: 酢酸: 水, pH 3.5. 0.8 mA/cm, 20分), 陽極側にトルイジン青でメタクロマジーをおこす単一の泳動帯を示す。この因子は熱に安定で, また 2 M の塩酸グアニジンによる処理で, より小さな単位に解離する。電子顕微鏡で調べると, TCA 処理された精子はその表面膜が破壊され, 核がふくらんで粗な構造を示しており, 分画 (B) は明らかに後者から, そして分画 (A) はおそらく前者から由来したと思われるが, なお今後の検討を必要とする。