

仔牛胸腺細胞核の酸性多糖

西篤秀俊(東大・理・動物)

Acid polysaccharides of calf thymus nuclei

HIDETOSHI SAIGA

酸性多糖が仔牛胸腺細胞の核に存在するか否かを明らかにするため以下の様な実験を行なった。

まず出発材料となる核はできる限り純度の高いことが望ましいことから Blobel と Potter の方法を応用し、仔牛胸腺細胞核を調製した。核標品の細胞質による汚染の程度は電子顕微鏡による観察、生化学的方法により検定した。その結果、一部の核膜に付着した少量の細胞質以外には、ミトコンドリア等はほとんど認められず、原形質膜標識酵素である5'-スクレオチダーゼ活性はホモジネート中の活性の約0.9%が残存しているのみであった。またDNA量に対する蛋白量比は約1.15であった。

このような標品を出発材料として、低温アルカリ処理、プロナーゼ分解、DNase分解、エタノール沈殿、セチルピリジニウムクロライド(CPC)沈殿を組み合わせた方法により、酸性多糖(中性付近でCPCにより沈殿し得る多糖)の抽出を試みた。その結果、得られた酸性多糖画分には、mgDNA当り少くとも約0.1 μ g弱のウロン酸が検出された。またこれらの酸性多糖画分を0.5Mギ酸-ピリジン(pH 3.0)、0.1M酢酸バリウム(pH 7.8)を用いて2次元電気泳動を行なうと、主としてヘパリンおよびコンドロイチン硫酸Bに相当する位置にそれぞれスポットが検出された。この泳動パターンは、ほぼ同様な方法で細胞質から得た酸性多糖画分のそれと明らかに異なるものであった。さらに核から得られた酸性多糖の各種分解酵素に対する反応性をみたところ、ヘパリンに相当するものでは、放線菌ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼABCに対しては抵抗性を示すが、粗ヘパリナーゼによって分解されることが判明した。

ラット正常肝細胞および肝癌細胞表層の酸性多一糖タンパク複合体について

大西孝之, 海宝晋一(東工大・理・生物), 下山路子(日女大・家・生物)

Acidic polysaccharide-protein complex at the surface of rat liver and ascites hepatoma cells

TAKAYUKI OHNISHI, SHINICHI KAIHO, MICHIKO SHIMOYAMA

Mowry染色によりrat肝細胞表層に見出される酸性糖を含む複合糖質は、細胞の分裂制御になんらかの役割りを果していると考えられている。この物質は従来酸性ムコ多糖を含むProteoglycanであると考えられていたが、組織化学的にrat肝細胞表層にはトルイジンブルーによるメタクロマジーおよびアルシアンブルーによる染色は観察されなかった。しかもNeuraminidase処理によりこの物質が消失することから、この酸性糖がシアル酸である可能性が非常に強くなった。そこで組織化学的にこの物質の消失が確認されているpartial hepatectomy後20時間の再生肝と、正常肝とからそれぞれJacobとBhargaraの改良法によって細胞を遊離し、低濃度非イオン性界面活性剤Nonidet P40によって表層物質を抽出し細胞あたりのシアル酸量を比較してみたところ、再生肝ではほぼ $1/2$ に減少していることが分った。さらに両抽出物の硫安分画を行なったところ正常肝では抽出シアル酸量の50%が0~40%硫安飽和画分に集中した。しかし再生肝ではこの画分の細胞あたりのシアル酸量が正常肝の $1/4$ に減少しており、総シアル酸量の減少が主としてこの画分の変化によることが分った。そこで正常肝の0~40%硫安飽和画分をSephadex G-200 columnでゲル透過を行なうとシアル酸はvoid volume付近に検出された。一方、rat肝癌細胞AH66表層ではトルイジンブルーのメタクロマジー、アルシアンブルー染色などにより酸性ムコ多糖の存在が確認された。また表層抽出物中よりシアル酸も検出されたがその量は正常肝細胞の約10%であり、癌化とこれらの物質との関係は興味深い。