

バフンウニ孵化酵素の塩依存性

中塚光史(名大・理・生物)

Salt dependence of the hatching enzyme from
Hemicentrotus purcherrimus

MITSUNOBU NAKATSUKA

ウニの孵化酵素は海水の影響下で受精膜を溶解する。古く菅原(1943)はバフンウニの孵化酵素が、NaCl や KCl で阻害を受けることを報告しているが、最近 NaCl や KCl が高濃度ではむしろ酵素の安定性と活性を高めることを見出したので、種々の塩のこの酵素に及ぼす影響を再検討してみた。酵素液は常法に従って調製したものを、さらに10,000 g・20分、100,000 g・60分遠心し、その上清を粗標品とし種々の塩濃度の Tris 緩衝液(pH 8.0)に透析しものを使用した。酵素活性は受精膜溶解活性と casein 分解活性を比較した。0.1M の NaCl または KCl に透析(10mM CaCl₂を含む)した酵素液の活性は著しく低いが、高塩濃度で透析した場合には、いずれの活性も増加し、その至適濃度は 0.5M から 1.0M であった。この事実はバフンウニ孵化酵素が好塩性であることを示すものである。一方、NH₄Cl の酵素活性に及ぼす影響は弱く、LiCl ではむしろ阻害がみられた。0.1M の NaCl または KCl に透析した酵素液を 1.0M の NaCl または KCl に透析すると、casein 分解活性は増加したが、受精膜溶解活性は NaCl の場合には逆に低下し、KCl の場合でも十分な増加はみられなかった。この事実は受精膜溶解活性が低塩濃度で失活することを示している。また 1M の LiCl 中では casein 分解活性はあるが、受精膜溶解活性はほとんど失われているので、この両者は少なくとも塩の濃度や種類に関してかなり異なった酵素的性質を持つものと考えられる。受精膜溶解作用に対する両者の関係は現在のところ不明である。

ウニの孵化酵素; 4. 孵化酵素の精製と、その性質

竹内 潔, 星 元紀(北大・低温研・生化学),

横沢英良(北大・薬学・生化学)

Hatching enzyme of sea urchin 4. Purification
and characterization

KIYOSHI TAKEUCHI, MOTONORI HOSHI,

HIDEYOSHI YOKOSAWA

エゾバフンウニ孵化酵素の粗酵素標品を、ゲル濾過(Sephadex G-100)、疎水性クロマトグラフィー(4-フェニル・ブチル・アミン-Sepharose, Sepharose-PBA), イオン交換クロマトグラフィー(DEAE-cellulose)により精製し、その性質を調べた。粗孵化酵素標品の Sephadex G-100 によるゲル濾過を行ない、ついで Sepharose-PBA クロマトグラフィーを行なった。chymotrypsin 様酵素の親和性吸着体として知られている Sepharose-PBA を用いると、孵化酵素は素通り画分(PBA-p)と吸着画分(PBA-a)の2つに分けられ両者による受精膜が溶解する様子は形態的に異なっている。さらに、PBA-p, PBA-a の2つの活性画分の DEAE-cellulose クロマトグラフィーを行なった。PBA-p では、これにより 0.1 M NaCl で溶出される画分(p-II)に孵化酵素が見い出された。これに対して PBA-a では素通り画分(a-I)と、0.1 M NaCl で溶出される画分(a-II)に、孵化酵素が存在した。この a-II をディスク電気泳動、SDS-urea ディスク電気泳動を行なったところ、孵化酵素は分子量 40,000±2,000 のタンパク質であり、さらに PAS 染色により陽性であったことより、糖タンパク質であることが確認された。また、a-I, p-II に見い出された孵化酵素については現在検討中であるが、a-II と p-II はおそらく同一の孵化酵素であろう。また粗酵素標品に含まれる β-1, 3-グルカネース(Vacquier, 1975)は、孵化酵素と完全に分離された。PBA-p, PBA-a の2つの画分は、chymotrypsin の合成基質である ATEE, p-NPA, p-NPGB を水解したが、trypsin の合成基質である TAME は水解しない。単離された孵化酵素は、Sepharose-PBA に親和性を示すこと、chymotrypsin の阻害剤によって活性の阻害が見られることより、孵化酵素の一つは chymotrypsin 様酵素だと結論できる。