無尾両生類の発生にともなう脂質の変動

竜崎正士,大島美恵子(北里大・医・生化), 鈴木 実,有賀敏夫(都臨床研)

Changes in lipid during the development of Anurans

Masahi Ryuzaki, Meiko Oshima, Minoru Suzuki, Toshio Ariga

初期発生及び形態形成に伴って起こるホスファチ ジルコリン (PC) の分子内の構成脂肪酸の位置的分 布の量的並に質的変動を明らかにするために本実験 を行なった。トノサマガエルの未受精卵(UE),受 精卵 (FE), 後期胞胚 (LB), 初期尾芽胚 (ETE), フ化胚 (HE), フ化後6日目 (6DT) とフ化後36日 目の幼生 (36 DT) を実験材料とした。 Folch (19 57) の方法で総脂質を抽出し、カラム及び薄層クロ マトグラフィー (TLC) によって PC を分離精製し た。 PC を含む各脂質の各 stage における変動につ いては第47回本大会で報告した。PC の分子内の構 成脂肪酸の位置的分布の分析方法は Wells と Hanahan (1969) の方法に従った。脂肪酸はメチルエ ステル誘導体としてガスクロマトグラフィー (GL C) 及び化学イオン化質量分析計で分析した。 PC の主要構成脂肪酸は C₁₆:0, C₁₈:0, C₁₆:1, C₁₈: 1, C₁₈: 2, C₁₈: 3 でこの外に C₁₄: 0, C₁₅: 0, C₁₇ :0, C₁₉:0, C₂₀:4 その他であった。FEのα位を 除き、他の stage の PC のα位とβ位は C16:0 が最も多く含まれ、多いものでは ETE のα位で総 脂肪酸の約50%を示した。また FE を除き,飽和 脂肪酸はα位に、不飽和脂肪酸はβ位に比較的多く 分布する傾向がわかった。 FE はα位に不飽和脂肪 酸が多く含まれ, C18:2 が約 35% を示すことはそ の分布上及びその含有量(UEで約9%, LBで約 3%を示す)からも特異的であった。これらの脂肪 酸の分布は各 stage の PC の α 位あるいは β 位ど うしを比較してみると、それぞれその量比が異なる ことがわかった。これらの外に FE の PC のα位に 総脂肪酸とほぼ同量の未知の物質が GLC で検出さ れている。この物質は UF では殆ど検出されず、発 生に伴って漸減する物質で現在追求中である。

ウシガエル幼生の変態時における尾部カテプシン活 性の変化

酒井順子、堀内四郎(上智大・理工・生物)

Changes of catheptic activity in tail during the metamorphosis of bullfrog, Rana catesbeiana

JUNKO SAKAI, SHIRO HORIUCHI

無尾両生類の変態時の尾部退縮中には、激しいタンパク分解が起こり、ライソゾーム系のプロテアーゼ(カテプシン)が関係していると考えられている。 我々は、ウシガエル Rana catesbeiana、幼生尾部のカテプシンについて、その活性変化及び性質について、以下のような結果を得た。

尾部ホモジネートのカテプシンの比活性は、尾部 退縮とともに増加し、変態終了期まで増加した。遠 心分画法で得た,1,000×g-10分,25,000×g-10 分, 100,000×g-30分の, それぞれの沈渣 (N, L, P) 及び, 100,000×g-30分の上清(S)の比 活性は、全画分が終了期まで増加を見せ、特に終了 期において著しく増加した。この4画分のうち、変 態前、変態中を通して、L画分の比活性が最も高か ったが、終了期において、S画分の大きな増加も見 られた。これは、酵素の細胞質への遊離あるいは顆 粒の膜状構造の強さの変化によるものと思われる。 総活性は、尾部あたりでは、退縮中増加し、終了期 に至って減少したが、尾部18あたりでは、終了期 での大きな増加があり、終了期においてこのカテプ シンが重要な役割を果していると思われた。カテプ シンの細胞内分布は、L画分すなわち顆粒性画分へ の局在を示していた。しかし、全活性に対する割合 は、L画分には低く、N、S画分に高く、Weber (1969, In Lysosomes in Biology and Pathology, vol. 2, pp. 439-461) の報告と一致していた。この カテプシンは、pH 2.9 で活性最大となり、 pepstatin により大きく阻害された。また、Sephadex G-100によるゲルろ過の結果, 分子量約5万のとこ ろに主要な活性が得られ、カテプシンD型であるこ とが示唆された。