

卵細胞によるタンパク質の選択的取り込みに関する研究 II 培養卵細胞における取り込み

山崎建次, 石上 武 (都立大・理・生物)

Selective protein-uptake by isolated insect oocytes

KENJI YAMASAKI, TAKESHI ISHIKAMI

我々は先にトノサマバッタを用いて, その卵黄形成期の卵細胞が, 体液中の vitellogenin と同様に卵より調製した lipovitellin (LV) を選択的に取り込むことを報告した。この選択的取り込みの実験系を *in vitro* に移すことが可能なら, より明確な条件下で多くの生化学的方法を採用して研究を進めることができると考え, 培養条件を検討した。

卵巢より単離した ovariole (terminal oocyte 3.5~5.5 mm) を FITC-LV を含む培養液中で, 20°C, 14~18時間保温した後, terminal oocyte への取り込みタンパクを TCA 不溶画分の蛍光により定量した。培養液の各成分について, タンパクの取り込みと卵細胞の安定度を考慮して最適濃度を求めた結果, NaCl 57.7mM, KCl 2.3mM, CaCl₂ 3.0 mM, MgCl₂ 0.75mM, Malic acid 2.0mM, sucrose 5.0%であった。最適 pH は 7.6 付近であった。培養温度を 25°C とすれば, 取り込みは約 2 倍となるが, 卵細胞の安定性が低下するので常時使うことはできなかった。取り込みに関与すると思われるアミノ酸は約 12 種類あり, その最適濃度は現在検討中である。

これまでの結果を考慮した培養条件下では, 取り込み速度 (卵表面積・時間当りのタンパク取り込み量) とタンパク濃度の関係は直角双曲線式に従うとみなすことができるので, 逆数プロットによって, LV と bovine serum albumin (BSA) の V_{max} を試算し比較してみると, LV V_{max} 20.8ng・mm⁻²・h⁻¹ BSA V_{max} 0.29ng・mm⁻²・h⁻¹ となり LV V_{max} は BSA のその 72 倍の値を示した。この結果は *in vitro* での LV の取り込みは *in vivo* の場合と同様, さわめて選択的なものであることを示している。

カワヤツメにおける抗ヒツジ赤血球抗体の産生とその性状

藤井 保, 中川博子, 村川新十郎 (新潟大・理・生物)

Haemolytic and hoemagglutination antibody production to sheep red cells in the arctic lamprey, *Lampetra japonica*

TAMOTSU FUJII, HIROKO NAKAGAWA, SHINJÛRÔ MURAKAWA

遼河回遊中のカワヤツメを, 15°C で羊赤血球 (SRBC) により腹腔内感作したところ, 凝集活性ならびに溶血活性を示す, 特異的抗体産生が認められた。1 回の抗原量は個体当り, 20°C SRBC 0.5ml とし週 1 回腹腔内投与をくり返した。凝集素 (HA), 溶血素 (HL) とともに, 3 回免疫後 1 週目の血清中にすでに出現し, 6 回免疫後 4 週目で, いずれも最高の抗体力価を示した。経時的に抗体力価の動態を追跡したが, 常に HL が HA より高力価を保っていた。溶血反応は補体依存性であり, 補体として種々の脊椎動物血清を添加したところ, ウグイ, イモリ, ウシガエル, クサガメ補体等では, 速やかな溶血反応を示すのに対し, カワヤツメ, トラザメ, ニワトリ, ヒト補体等では溶血反応は進行せず, カワヤツメの HL においても, 補体結合性に特異性が存在した。HA, HL とともに SRBC に対し特異的であり, 0.2 M2-ME 中で完全に失活したが, 両者は以下の諸点において, その性状を異にしていた。(1) HL は 1 mM EDTA の存在下で溶血反応を起こさないのに対し, HA は 10mM EDTA にも概して影響をうけない。(2) HL は易熱性 (42°C, 30 分間加熱処理で失活) であるが, HA は 56°C 30 分処理しても安定である。(3) 凝集反応は, 反応温度と無関係に起こるが, 溶血反応は低温で著しく緩慢となる。(4) Sephadex G-200 ゲル濾過法によると, HL, HA 共, 排除容量に引き続いて分画されるが, HL はより高分子領域にのみ存在する傾向がある。(5) DEAE-cellulose クロマトグラフィーで分別すると, HL が HA に先がけて溶出する。以上の結果から, 哺乳類において胸腺依存性抗原として知られている SRBC に対してすでに円口類の段階で, 比較的高度の免疫応答能が存在すると考えられる。