The Zoological Society of Japan

バフンウニ胚の孵化酵素と局在性について

中塚光史（名大・理・生物）

Hatching enzyme and its localization in the development of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*

MITSUNOBU NAKATSUKA

バフンウニ胚の発生に伴う孵化酵素とプロテアーゼ活性の変動と細胞内局在性について調べた。抽出液は0.25M 蔗糖・0.5M KCl・12.5mM $CaCl_2$・10 mM Tris-HCl (pH 8.0) 緩衝液を用いた。胚をホモジナイズ後，500g・10分で未破壊細胞と核を除き，さらに 10,000g・20 分で遠心した上清と沈殿分画の孵化酵素とプロテアーゼを測定した。孵化酵素は9時間胚では沈殿分画のみに存在し，その後10時間胚で上清分画にも活性が見られた。孵化が開始された12時間胚で両分画の活性はともに最大となり，同時に海水中に孵化酵素が分泌された。プロテアーゼは両分画で発生において著しい変化は認められず，孵化開始後直線的に増加した。次に時間胚，12時間胚で細胞分画を試み酵素の局在性を調べた。500g・10分，2,000g・10分，8,000g・20分，10,000g・20分，100,000g・60分の沈殿分画と 100,000g の上清分画のうちでチトクロム・オキシダーゼ活性は8,000g・20 分までの分画に活性の大半が検出された。一方，孵化酵素は11時間胚の沈殿分画に84%の活性が存在し，2,000g と8,000g の沈殿分画を合わせて45%の活性を示した。これは顆粒成分としての酵素を示唆する。プロテアーゼ活性は 100,000g 沈殿分画に36%回収され，孵化酵素とは異なる局在性を示した。発生とともに沈殿・上清両分画中の孵化酵素活性増加の現象を検討するために10時間胚と12時間胚をそれぞれ 10,000g 上清・沈殿分画に分け混合実験を行なった。活性の最も低い10時間胚上清分画と活性の最も高い12時間沈殿分画を等容量混合したところ，活性は期待値の半分に低下した。このことは10時間胚上清分画に孵化酵素活性を抑制する因子が存在する可能性を示すものである。

カブトガニ胚に対するアザセリンの影響

伊藤富夫（静大・教育・生物）

The effect of a zaserine on the morphogenesis of horseshoe crab

TOMIO ITO

多糖合成や DNA 合成の阻害剤として知られるグルタミン拮抗物質アゼセリンで，カブトガニ胚を処理し，その形態形成への影響を調べた。

その結果，胚域が前後に分離した胚が多く得られた。胚域の分離は，頭胸部の第2体節でおきており，そのことは，正常海水中でまれに見られる胚域分離胚が主に頭胸部第3体節で分離している事と異なっている。

アザセリンによる胚域分離胚の出現条件は次のとおりである。発生段階：胚盤が出現する時期に処理した場合のみ生じた。他の時期では，別の型の奇形も生じなかった。処理時間：24時間が最適であった。濃度：10～50μg/mlが最適であった。

アザセリンによる胚域分離の誘導は，グルタミンによって完全に抑えられた。しかし，多糖合成系の，アザセリンにより阻害される過程のあとの代謝産物であるグルコサミンやアセチルグルコサミンには回復作用はなかった。また，多糖合成の阻害剤キシロース配糖体やデオキシグルコースには胚域分離をおこす作用はなかった。一方，DNA 合成阻害剤として知られるハイドロオキシウレアは，アザセリンによって生ずる胚域分離胚と同様な奇形を誘導した。胚盤が出現した発生段階で，10^{-1}M ほどのハイドロオキシウレアで，24時間処理すると胚域分離がおきた。また，アザセリン処理によって，胚の細胞分裂は抑制されていた。それらのことから，アザセリンの胚域分離の誘導作用は，多糖合成の阻害よりも，DNA 合成の阻害に基づいているように思われる。

なお，胚域分離が形成される機序は，まだ，考察の段階ではない。

NII-Electronic Library Service