

ヒトデ卵成熟促進因子 (MPF) の抽出と精製

岸本健雄, 金谷晴夫 (基生研・生殖)

Extraction of starfish maturation-promoting factor

TAKEO KISHIMOTO, HARUO KONATANI

ヒトデ卵の成熟は, 1-メチルアデニン (1-MeAde) によって誘起される。1-MeAde は卵表に作用して卵細胞質中に卵成熟促進因子 (maturation-promoting factor, MPF) を生じ, これが卵核胞の崩壊をひきおこす。MPF の本体は不明なので, その化学的性質を知るために, イトマキヒトデ卵から MPF を抽出することを試みた。

1-MeAde 処理によって成熟しつつある卵を, EGTA を含む Ca 欠除海水で洗ってから遠心 ($4000 \times g$, 15分) して集め, 余分の海水とジェリーを除去して, 卵だけの沈殿を得る。この卵を遠心 ($20k \times g$, 15分) によって破壊し, 更に遠心 ($120k \times g$, 30分) すると, 上清中に MPF が得られる。しかし, この MPF 抽出物は 0°C においても24時間後には活性を失うので, この上清を NaF, β -グリセロリン酸ナトリウム, EGTA を含む緩衝液中でホモジエナイズして遠心 ($150k \times g$, 30分) し, 上清を得る。これを, 0-30%, 30-50%, 50-100% 飽和硫酸で沈殿させて分画し, β -グリセロリン酸ナトリウム, EGTA, ATP を含む緩衝液に対して透析すると, 30-50% の分画が MPF 活性を示した。次に, MPF を精製していくための準備として, この活性分画をさらに, セファクリル S-200 とベンチル・アガロースのカラムにかけて, MPF の分離を調べた。

MPF の存在はカエル卵においても知られており, カエル MPF はヒトデ卵の成熟をひきおこす。そこで, 今回の硫酸分画によって得られたヒトデ MPF を, *Xenopus* 卵に注射したところ, 成熟がおこった。従って, MPF は, 脊椎動物・無脊椎動物にかかわりなく類似した構造をもつと考えられる。

ヒトデ卵成熟における卵表因子についての二, 三の知見

筏井洋之, 森沢正昭*, 近藤尚代, 金谷晴夫 (基生研・生殖), (*東大・海洋研)

Some aspects of the oocyte-surface factor in 1-MeAde-induced maturation

HIROYUKI IKADAI, MASAAKI MORISAWA, HISAYO KONDO, HARUO KANATANI

ヒトデ卵の成熟は 1-メチルアデニン (1-MeAde) によって誘起される。卵成熟誘起における 1-MeAde の作用部位が卵表細胞膜であることは以下に述べる実験結果より示唆される。1) 1-MeAde を直接, 未成熟卵に注射しても無効である。2) プロナーゼ処理によりゼリー層と卵膜を除去した卵 (1-MeAde に対する反応性をもつ) をさらに 0.01% トリトン X-100 (TX) で処理すると 1-MeAde に対する反応性は著しく減少する。3) この失活卵に TX 抽出物から TX だけを除いて加えると反応性を回復し, 卵成熟がおこる (抽出卵表因子の卵表での再構成)。TX 処理卵は海水中におくと卵表因子を再生することが見い出された。すなわちこれらの失活卵は約 7 時間後には 1-MeAde に対する反応性を回復する。この回復は同一卵を 2 回, 3 回とくりかえし TX 処理したときにも見られる。XT 処理後 1 時間の各々の失活卵にそれぞれの TX 抽出物を加えると反応性の回復が見られた。ただこの場合, TX 抽出物の全活性は徐々に減少する傾向があった。

卵表因子の部分精製を別に行った。TX 抽出物をバイオビーズ SM-2 カラムに通して TX を除去後, 濃縮しエタノール (最終濃度 68%) を加えると活性は上清に見られる。この上清を濃縮し, 等量のクロロホルムで振り, より強い活性が認められる上層 (水層) を濃縮後, 再びエタノールを加え (同濃度) 上清を濃縮すると活性の大部分は生じた沈殿にあった。この沈殿を蒸留水に溶かし, セファデックス G-10 カラム (0.1M ピリジン酢酸, pH 7.5), および G-25 カラムに通すと活性は食塩の溶出位置の少し手前の分画に認められた。