

魚類孵化酵素の阻害剤感受性

井内一郎（東大・理・動物），山上健次郎（上智大・生命研）

Sensitivity of fish hatching enzyme to inhibitors

ICHIRO IUCHI, KENJIRO YAMAGAMI

金属プロテアーゼの一種であるメダカ孵化酵素は、ロイペプチン、カイモスタチン、エラストチナール、ペプスタチン、アンチパインのような細菌性プロテアーゼ阻害剤で阻害されない。特に、サーモライシン (Zn) やコラゲナーゼ (Ca) のような金属プロテアーゼの阻害剤であるホスホラミドンで阻害されないことは、興味ある問題である。

キレート剤の酵素に対する阻害効果を調べてみると、EDTA が最も強く、EGTA, IDA の順である。また、錯体形成能をもつ CN^- による阻害の程度は、IDA と同じである。阻害効果の強さと安定度定数との比較から、EDTA と EGTA とに同程度の親和性を示す Ca や Cd のような金属や、 CN^- 強い親和性を示す Zn, Co, Cu, Fe のような金属は、この酵素の活性に関与していない可能性が示唆される。また、EDTA 存在下で阻害された酵素の金属による活性回復効果を調べると、Mn と Fe^{2+} の場合にのみ回復効果が見られる。これらの結果を総合すると、メダカ孵化酵素の活性中心には Mn が存在する可能性が強いが、再現性のよくない点を考慮すると、原子吸光等の方法により、酵素内に Mn の存在することが同定されるまでは、結論できない。

さらに、IDA, EGTA, EDTA のニジマス孵化酵素に対する阻害の程度は、メダカの場合とは異なり、この三者で同じであった。この事実、ニジマス孵化酵素の活性に関与する金属がメダカとは異なることを意味し、さらに、Pike 孵化酵素のそれが Zn であるという最近の報告 (Schoots and Denucé, 1981) とも考え合わせると、魚類孵化酵素の比較生化学という観点から、興味ある問題である。

ニホンアカガエル孵化酵素の精製と孵化腺細胞の分化について

阿部則雄，大岡英二（山形大・理・生物）

Purification of hatching enzyme and differentiation of hatching gland cells in *Rana japonica*
NORIO ABE, EIJI OHZU

ニホンアカガエル (*Rana japonica*) 胚孵化酵素の精製についてはすでに前回の大会で報告した。前回の精製酵素試料についてはいまだ単一な Disc 電気泳動パターンが得られなかったことから、今回さらに検討を加えた。

ニホンアカガエルの孵化酵素原液について前回と同様な方法に従って精製を試みたところ次のような結果を得た。(1) 孵化酵素原液の67%飽和硫酸による沈殿分画の Sephadex G-100 カラムクロマトグラフィーで、void volume 分画とそれより遅れて溶出する酵素活性分画とが得られた。(2) Sephadex G-100 酵素活性分画の DEAE-Cellulose によるカラムクロマトグラフィーでは、0.1M NaCl 溶出分画に酵素活性が認められた。(3) DEAE-Cellulose 酵素活性分画を回収し、さらに調製用電気泳動を用いて酵素の精製を行なった。その結果、3つの溶出パターンが得られ、酵素活性は第3の溶出分画に認められた。

これらの結果を前回のそれと比較してみると、Sephadex G-100 カラムクロマトグラフィーにおける void volume 分画には酵素活性は認められず、かわりに第2の溶出分画に強い酵素活性が認められた。この違いが如何なる理由によるものかは明らかでない。Sephadex カラムクロマトグラフィーの実験条件の違いによるものか否かを今後検討して結論を出したい。

またニホンアカガエルを材料にした実験では孵化腺細胞の外植実験が報告されている (吉崎, 1976)。そこで今回、我々も初期尾芽胚の頭額部表皮の Barth 溶液中での培養を試み、孵化腺細胞が分化してくることを観察した。今後、両生類胚の酵素学的研究とあわせて細胞学的観察をも計画している。