

バフンウニ胚のアセチルコリンエステラーゼの精製

赤坂甲治, 嶋田 拓 (東大・理・動物)

Purification of acetylcholinesterase of sea urchin embryos (*Hemicentrotus pulcherrimus*)

KOJI AKASAKA, HIRAKU SHIMADA

ウニ胚のアセチルコリンエステラーゼ (AchE) の活性は受精後, 胞胚期まではきわめて低いが, 原腸胚期を境に発生に伴って急激に増加することが知られている。我々はその機構を解明するために, まず AchE の精製を試みた。

バフンウニのブルテウス約 5×10^8 から AchE を 0.5% Triton X-100 により抽出し, DEAE-cellulose, Sepharose CL-6B クロマトにより部分精製した後, さらに trimethyl (p-aminophenyl) ammonium chloride-Sepharose 2B のアフィニティークロマトにより精製した。最終的に homogenate の 14,600 倍の比活性 (2626) をもつ AchE が 150 μ g 得られた。yield は 8% であった。

イトマキヒトデ卵の DNA リガーゼとその局在性

大石 昇, 嶋田 拓 (東大・理・動物)

Activity and localization of DNA ligase in the oocyte of *Asterina pectinifera*

NOBORU OISHI, HIRAKU SHIMADA

卵核由来の物質が, DNA 合成に必要であることが示唆されている。イトマキヒトデ卵細胞には受精後と等量の DNA ポリメラーゼ α および β 活性があり, その大部分は卵核に局在する (前大会報告)。今回, 同じく DNA 合成系酵素である DNA リガーゼについて検討した。根本ら (1980) のサイトカラシン B を用いた方法に従い, 卵細胞を, 卵核とごく少量の細胞質を含む有核片と, 細胞質の大部分を含む無核片とに分けたところ, DNA リガーゼ活性は殆んど有核片に見出された。DNA リガーゼは卵核またはその周辺に存在するものと思われる。また, 卵または胚 1 個あたりの DNA リガーゼ活性は, 成熟分裂・受精から囊胚期までの各過程で一定であった。さらにグリセロール密度勾配遠心法による解析では, いずれの場合も DNA リガーゼは 4.1 S の沈降係数を示し, ヒトデ卵および胚においては DNA リガーゼは一種類であることがわかった。

ウニ初期胚の AP_4A 合成活性

森岡瑞枝, 嶋田 拓 (東大・理・動物)

Synthesis of diadenosine tetraphosphate in sea urchin embryos

MIZUE MORIOKA, HIRAKU SHIMADA

diadenosine 5', 5'''- p^1, p^4 tetraphosphosphate (AP_4A) は, 培養細胞では“細胞増殖関連因子”と考えられている。Judice らは, ウニ胚の AP_4A 合成を否定しているが, 今回我々はバフンウニ初期発生過程で AP_4A が合成されていることを見出した。ウニ胚 (morula および prism) を 3H -adenosine 500 μ Ci を含む人工海水中で 4 時間標識し 0.5M PCA により酸可溶性ヌクレオチドを抽出後, カラムクロマトグラフィー (DEAE-Sephadex 及び DEAE-cellulose (2 回) および薄層クロマトグラフィー (PEI-cellulose) により分離し標識 AP_4A 画分を得た。本画分を蛇毒 phosphodiesterase で消化すると放射活性は全て AMP 画分へ移行する。また, alkaline-phosphatase 消化すると全放射活性は AP_4A 画分へ留まる。以上の結果はウニ初期発生胚で AP_4A が合成されていることを示すものである。