ヤドリギレクチン(VAA)のトリプシン処理ニワトリ 赤血球に対する凝集性に関する研究

水谷 誠・梅沢英彦・倉益茂実

財団法人日本生物科学研究所付属実験

動物研究所, 小湊沢町 409-16

Studies on the Agglutinability of Trypsin-treated Chicken
Red Blood Cells with *Viscum Album* (VAA) Lectin.

Makoto Mizutani, Hidehiko Umezawa and

Shigemi Kuramasu

Nippon Institute for Biological Science,

Laboratory Animal Research Station,

Kobuchizawa, 409-16

筆者らはダイズレクチンがトリプシン処理したすべての雄および非産卵雌赤血球を凝集し、ほとんどの産卵雌赤血球を凝集しないことを報告した(水谷ら, 1985)。今回は市販のヤドリギレクチン(VAA)がトリプシン処理したニワトリ赤血球を雌雄の別なく陽性個体と陰性個体に区分することを見出したので報告するとともに処理に用いるトリプシン溶液の濃度, 処理時間についても検討したのであわせて記載する。

材料および方法

ヤドリギレクチン: 市販のVAAレクチン(E・Yラボラトリーズ社) 100mgを50mlの生理的食塩液に溶解したものを原液として用いた。

トリプシン溶液: DIFCOのトリプシン(1:250)を0.3%および0.6%の濃度になるよう生理的食塩液で溶解し用いた。

ニワトリ: 当研究所において維持されている4品種を含む11系統の成鶏の雌雄を用いた。

赤血球のトリプシン処理法: 定法に従い生理的食塩液で3回洗浄後の2%赤血球浮遊液10mlに0.3%および0.6%トリプシン溶液0.2mlを加え, 振盪後37℃の恒温器に15, 30, 45および60分間静置し赤血球を処理した。恒温器より取り出した後, すみやかに室温の生理的食塩液により2回洗浄後0.2%赤血球浮遊液とし, ただちにVAAレクチンと反応させた。

赤血球凝集反応法: プラスチック製凝集板を用いた。生理的食塩液により倍数希釈(最終希釈128倍)したVAAレクチン0.1mlにトリプシン処理したニワトリ赤血球0.1mlを加え室温に1時間および

3時間静置後，凝集像を観察した。結果は凝集価によりあらわした。

結果および考察

1. トリプシン溶液の濃度および処理時間の検討

0.3%および0.6%のトリプシン溶液を用い，2%ニワトリ赤血球浮遊液を37℃で15分間，30分間，45分間および60分間処理後，VAAレクチンに対する凝集性を検索した。結果は表1に示したごとく，0.3%15分間処理区においてすでに無処理区と凝集性が異なった。しかし，PNP系の雌赤血球の凝集性は0.3%60分間処理区では陰性であったが，0.6%15分間処理により陽転し，0.6%60分間処理区において最も高い凝集価を示した。このため，以後の実験はすべて0.6%トリプシン溶液により60分間処理した赤血球を用いた。

Table 1. Effect of concentrations of trypsin solution and time for treatment on the agglutinability of chicken red blood cells from various strains with VAA lectin

% of trypsin	time for treatment	BM-C		WL-F		WL-GM		PNP		NH-412	
0.3	Non treatment	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15 min.	0	0	6.0	7.0	7.0	7.0	0	0	0	0
	30 "	0	0	6.0	8.0	8.0	8.0	0	0	0	0
	45 "	0	0	7.0	8.0	8.0	8.0	0	0	0	0
	60 "	0	0	7.0	8.0	8.0	8.0	0	0	0	0
0.6	15 min.	0	0	7.0	8.0	8.0	8.0	0	5.0	0	0
	30 "	0	0	7.0	8.0	8.0	8.0	0	6.0	0	0
	45 "	0	0	7.0	8.0	8.0	8.0	0	7.0	0	0
	60 "	0	0	7.0	8.0	8.0	8.0	0	8.0	0	0

2. VAAレクチンの種々のニワトリ系統に対する赤血球凝集性

当研究所において維持されている11系統の成鶏のトリプシン処理赤血球のVAAレクチンに対する凝集性を検索した。結果は表2に示したごとく，BM-C系およびNH-412系は陰性に，WL-GM系，Tp系，GSN/1系およびGSN/2系は陽性にそれぞれ固定していたが，他の5系統においては陽性・陰性両個体が存在した。また，産卵雌と未産卵雌とで凝集性に変化はみられなかった。

Table 2. The agglutinability of trypsin - treated chicken red blood cells from various strains with VAA lectin

Strain	Male		Female	
	+	-	+	-
BM-C	0	25	0	45
WL-F	34	4	34	5
WL-GM	50	0	40	0
WL-15	4	5	6	4
Tp	16	0	39	0
PNP	21	24	40	6
GSN/1	9	3	10	0
GSN/2	15	16	20	0
GSP	47	14	32	5
NH-412	0	21	0	24
NH-413	4	5	21	10

3. VAAレクチンと反応する赤血球凝集原“Va”の遺伝性の検索

“Va”凝集原の遺伝性を検索するため、BM-C（雄）×WL-GM（雌）およびWL-GM（雌）×BM-C（雌）の交配を行い両F₁の赤血球凝集性を検索した。結果は、前者の交配から得られた72個体および後者の交配から得られた6個体ともにすべて陽性であった。このことはVa凝集原が常染色体性の優性遺伝子により支配されていることを示唆している。

BM-C系はPh凝集原（水谷・藤尾，1971）に関しては陽性系でありSi凝集原（水谷ら，1978）に関しては陰性系である。一方、WL-GM系はPh凝集原に関しては陰性系で、Si凝集原に関しては陽性系である。今後、F₂個体においてVa、PhおよびSiの各凝集原の有無を検索し、Va凝集原の遺伝子分析を行うとともにPhおよびSi両凝集原との連関の有無を検索する予定である。なお、前述の交配から得られたF₁はすべてPhおよびSi両凝集原とも陽性であった。

文 献

- 水谷 誠・藤尾芳久，1971 日畜会報，42：401-408.
 水谷 誠・松村芳秀・梅沢英彦・倉益茂実，1978 ABRI，6：15-16.
 水谷 誠・梅沢英彦・倉益茂実，1985 ABRI，13：47-51.