ゴナドトロピンの抗原性に関する研究

1. 汙紙電気泳動法によるゴナドトロピンの泳動成績

安 田 泰 久・進 藤 武 男

(岩手大学農学部家畜改良学教室)

近年、ゴナドトロピンの純化に関しては、Goss ら¹⁾ (1940), Cole ら²⁾ (1940) および Katzman ら³⁾ (1943) の報告がみうけられるが、とくに電気泳動法を利用したの分別および各分層の生物学的追求についての研究は、Li ら⁴⁾ (1940), Schneider ら⁵⁾ (1956) および Frahm ら⁶⁾ (1957) が行っている。

この方法によれば、妊馬血清性ゴナドトロピン (以下 PMSG と略す) は、1~5つの分層に (Schneider ら⁷⁾ 1955, Bourrillon ら⁸⁾ 1957), 絨毛性ゴナドトロピン (以下 CG と略す) は、1~5 の分層に (Schneider ら⁹⁾ 1955) に分けられると報告されている。

そこで、ゴナドトロピンの複雑な抗原性を追求する目的の実験を開始するに当って、汙紙電気泳動法を用いて、ゴナドトロピンの各分層を分別したので、ここに報告する。

実験材料と方法

1. 泳動材料: Rimington ら¹⁰⁾ (1944) に従って妊娠ウマ血清から製造した PMSG* と Katzman ら³⁾ (1943) の方法によって妊娠婦人尿から製造した CG** で、これらの生物学的力価は第1表に示す通りである。

泳動に当っては、このゴナドトロピン結晶を日立タンパク屈折計によって、ゴナドトロピン稀釈液のタンパク価が 1.0% 以上になるように蒸留水で稀釈した。

2. 泳動方法: 小林式汙紙電気泳動装置を使用し、8.45 Volt/cm の定電圧と1部は 0.44 mA/cm の定電流で 6~7 時間泳動した。この際、泳動時の泳動箱中の温度を 15~20°C になるようにした。緩衝液はペロナール (pH 8.6, $\mu=0.05$)、汙紙は東洋汙紙の No. 51 A (3×24 cm) を使用し、泳動したのち、100°C で 10 分間乾燥し、amidoschwarz 10 B 染色, brom phenol blue 染

Studies on the antagonisity of gonadotrophins.
1. Electrophoretic results of gonadotrophins by paperelectrophoresis.

YASUDA, Y. and T. SHINDO (Fac. Agric., Iwate Univ. Morioka) *Jap. J. Animal Reprod.* **11** (2), 1965.

第1表 汙紙電気泳動に使用したゴナドトロピンの生物学的力価

標 品	Lot. No.	生物学的 力 価	泳 動 に 使 用 し た 稀 釈 液	
			稀 釈 度*	タンパク%
PMSG	101	i.u./mg 2,307	mg/ml 12.99	7.2
	111	1,720	25.00	0.7
CG	1102	2,439	8.20	5.5
	012	2,173	27.60	1.3
	013	2,173	9.20	1.2

*; 溶媒は蒸留水を使用した

色ならびに period acid schiff 染色を行った。染色後、1% 氷醋酸液で脱色、風乾し、100°C で paraffin (m.p. 58°C) を通して透徹し、小林式のデンストメーターを用いて 460 m μ および 550 m μ のフィルターで読み、各分層の濃度を測定した。

実 験 成 績

1. PMSG の泳動像: 巾 3 cm の汙紙に第1表に示した PMSG 稀釈液 0.005~0.010 ml をつけて泳動を行なったところ、6~7 時間後の成績は、全く分離せず、泳動した全距離のほぼ中央部に巾の広い 1 本の線を示すに止まった (写真 1)。

このような成績は、使用した PMSG の Lot. No., 泳動に用いた PMSG 稀釈液のタンパク含量、汙紙につける量、さらには各種の泳動条件 (電圧、電流、緩衝液など) のいずれによっても泳動像の変化はみうけられなかった (写真 1)。

すなわち、汙紙電気泳動によっては、PMSG は 1 つのピークを示すのみである。

2. CG の泳動像: PMSG の泳動と同様、第1表に

*; 東芝製薬より分与された Lot. 101, 帝国臓器より分与された Organon Lot. 111 を使用した。**; 東芝製薬より分与された Lot. 1102, 012, 013 を使用した。

写真 1 PMSG の泳動像

写真 2 CG の泳動像

示した CG 稀釈液 0.005~0.010 ml を沱紙につけて泳動したところ、沱紙のほぼ中央部に巾の広い各染色液に良く染まる線と、さらに、その陽極側に、それよりやや巾の狭い線が認められる (写真 2)。

泳動した沱紙をデンスリトメーターにかけると、その吸光度は、中央部の巾の広い線でピークを示し、陽極側の線でやや低いピークを示すほか、この CG 稀釈液をつけた原点に低いピークがみられ、合計 3 つのピークが認められる。

このような成績は、PMSG で述べた各種の条件では関係なく、3 つの分層の存在が指摘される。

考 案

ゴナドトロピンが複雑な糖タンパク物質から成り立って居り、その各種の抗原分析成績からみても複雑であることは良く知られている所である。現在の製造法では、この複合タンパク質の単離抽出および精製が不可能

とされている。

電気泳動による成績では、PMSG の泳動分離について、FRAHM ら⁶⁾ (1957), SCHNEIDER ら⁹⁾ (1955) が、ペロナール緩衝液で 400 Volt, 3 時間泳動後、ninhydrin 染色で 5 つの分層に分け、生物学的作用が、陰極側から第 4 番目の所にピークをもつことを指摘しているが、Li ら⁴⁾ (1940) はチゼリウスによる泳動成績から、PMSG は泳動学的に均一であるとし、BOURRILLON ら⁸⁾ (1957) も単なる電気泳動法では 1 本の線を示すのみだが、zone-starch electrophoresis で始めて分離すると述べている。

すなわち、pH の巾の広いチゼリウス装置では、分離することが困難と指摘しているが、この実験で、PMSG の分離が全く認められなかったことと関連性があるものと考えられる。

一方、CG の泳動分離について、SCHNEIDER ら⁷⁾ (1955) が PMSG と同様な泳動条件下で、5 つの分層に分け、このうち、3 つの分層に生物学的ホルモン作用の存在を指摘している。しかし、本実験で得られた CG の泳動成績では、3 つの分層の存在を示し、製品による差、(注、Lot. No. による差) が若干認められている。

ゴナドトロピンを提供されました、東芝製薬 K.K. ならびに帝国臓器 K. K. に対して深甚な感謝の意を表する。

(1965. 1. 16 受付)

引用文献

- 1) Goss, H. & H.H. COLE: *Endocrinol.* **26**, 244, 1940.
- 2) COLE, H.H., R.I. PENCHARZ & H. GOSS: *ibid.* **27**, 548, 1940.
- 3) KATZMAN, P.A., GODFRIED, COIN & DOISY: *J. Biol. Chem.* **148**, 501, 1943.
- 4) LI, C.H., H.M. EVANS & D.H. WONDER: *J. Gen. Physiol.* **23**, 733, 1940.
- 5) SCHNEIDER, W.G. & H. FRAHM: *Acta endocr. Copenhagen* **23**, 338, 1956.
- 6) FRAHM, H. & W.G. SCHNEIDER: *ibid.* **24**, 106, 1957.
- 7) SCHNEIDER, W.G. & H. FRAHM: *ibid.* **20**, 279, 1955.
- 8) BOURRILLON, R. & R. GOT: *ibid.* **24**, 82, 1957.
- 9) SCHNEIDER, W.G. & H. FRAHM: *ibid.* **20**, 286, 1955.
- 10) RIMINGTON, C. & I.W. ROWLANDS: *Biochem. J.* **38**, 54, 1944.