

ホタテガイ中枢神経に存在する卵成熟抑制因子 Oocyte Maturation

Arresting Factor (OMAF)の同定

○田辺 徹(東北大院農)・尾定 誠(東北大院農)・稲葉 一男(筑波大理)・木島 明博(東北大院農)

キーワード: ホタテガイ(*Patinopecten yessoensis*)・セロトニン(5-HT)・卵成熟・Oocyte Maturation Arresting Factor (OMAF)

【目的】神経伝達物質と知られるセロトニン(5-HT)は海産二枚貝の卵成熟と卵放出を誘起することが知られている。我々はこれまでホタテガイ頭部・足部神経節(CPG)に存在する 5-HT による卵成熟を抑制する Oocyte Maturation Arresting Factor (OMAF)とその作用機序を報告してきた。OMAF はタンパク質性の因子で血リンパによって卵巣まで到達し、卵は OMAF に対し受容機能を有し、5-HT による細胞外 Ca^{2+} の細胞内への流入を抑制することによって機能していることを示した。しかし OMAF の分子構造は不明であった。本研究は OMAF の同定を目的に精製を試み、その部分配列の解明を行った。

【方法】CPG の硫酸アンモニウム塩析画分をゲルろ過クロマトグラフィーで分離し、ホタテガイ卵巣組織片及びアサリ卵を用いた *in vitro* assay で分子質量を推定した。次に血リンパ上清の硫酸アンモニウム塩析画分をゲルろ過クロマトグラフィーで分離し、アサリ卵を用いた *in vitro* assay で分子質量を推定し、CPG 抽出物中の画分と血リンパ上清の画分で抑制活性の見られた画分の推定分子質量を比較した。次に血リンパ上清の塩析画分からゲルろ過クロマトグラフィーと陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製を行い、アサリ卵を用いた *in vitro* assay によるスクリーニングで活性画分を分離した。さらに、卵の持つ OMAF に対する受容機構を利用して OMAF 分子の特定を行い、トリプシン処理後、逆相 HPLC によって分離し、各ピークについてアミノ酸シーケンスにより内部アミノ酸配列を決定した。

【結果】CPG 抽出物のゲルろ過による分画の活性画分は、ホタテガイ卵巣片及びアサリ卵によるスクリーニングで同じ約 60 kDa の推定分子質量を示したことから、同一の物質が機能していると考えられた。また血リンパ上清のゲルろ過分画でも活性画分の推定分子質量は CPG と同様に約 60 kDa であったため、CPG に存在する OMAF は血リンパを経て伝達されることを強く支持した。還元状態の SDS-PAGE から OMAF は 52 kD の分子質量を持つ単量体のタンパク質で、その 3 ヶ所の内部アミノ酸配列は、既知のタンパク質に相同性を示さなかった。さらに、これまで哺乳類で報告されている OMI やアメリカウバガイで報告されている *Spisula factor* とは異なる物質であることがわかった。以上の結果から、OMAF は新規の調節因子である可能性が示唆された。

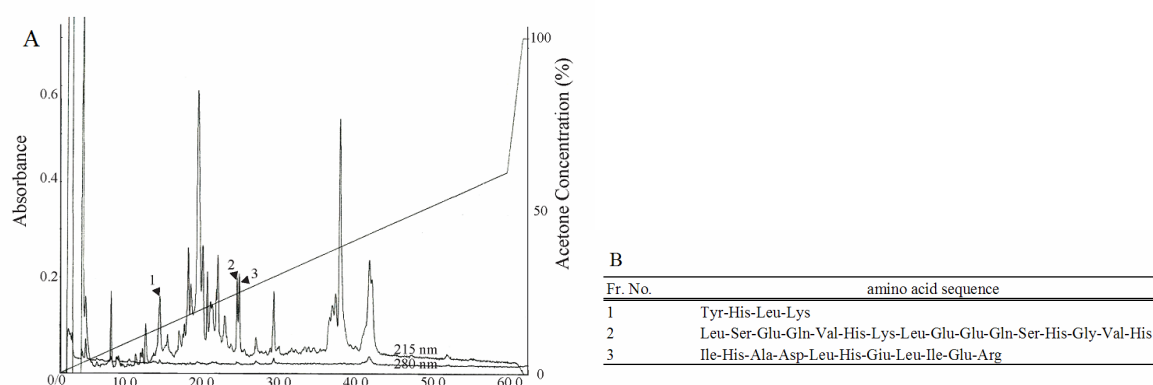


Fig. 活性画分のトリプシン消化後逆相 C18 カラムによる分離(A)と各ピークの部分アミノ酸配列(B)