

〔Microbiol. Immunol., 23, 1009 (1979)〕

Purification and some physicochemical properties of slow-reacting substance of anaphylaxis(SRS-A) from sensitized guinea pig lung

SHIGEKATSU WATANABE, AKIHIDE KODA

感性モルモット肺からの slow-reacting substance of anaphylaxis

(SRS-A) の分離精製とその物理化学的性質

渡辺茂勝, 江田昭英

本研究では感作モルモット肺切片に抗原を作用させて生成する SRS-A を部分的に精製し、その物理化学的性質について検討した。600匹の感作モルモット肺から抗原によって遊離する SRS-A を精製材料とした。有機溶媒処理、80% ethanol 抽出、80% ethanol を展開溶媒とした Sephadex LH-20によるクロマトグラフィーを用いてSRS-A 活性分画を濃縮した。最後にその 60% methanol 抽出物を DEAE-Sephadex A-25 に適用し、0.0~0.1M NaCl (60% methanol 溶液)を用いて step-wise に溶出した。SRS-A は 0.04M NaCl によって溶出した。この操作によって SRS-A 活性は原材料の 1.67×10^6 倍に濃縮された。このような操作によって高度に精製された SRS-A の分子量は380~400 dalton であった。SRS-A は酸性では不安定で、アルカリ性では安定であり、その活性は SRS-A 拮抗剤の FPL 55712の低濃度によって抑制された。SRS-A の水溶液は熱に対して安定であり、60°C, 60分間の加熱により活性は増強した。本研究によって得られた精製法は、他の種属または他の組織からの SRS-A の研究にも有用であるものと思われる。また、モルモットの SRS-A の性質は他の種属の SRS-A の性質に類似しているように思われる。

	Units	Recovery(%)	Sp. activity
Crude SRS-A (137g)	210,000	100	1
treat with ether (4X)			
Insoluble portion			
treat with chloroform (4X)			
Insoluble portion			
extract with 80% ethanol			
80% ethanol extract			
Sephadex LH-20 column chromatography			
FC			
FA-1 (509mg)	171,360	81.6	220
extract with 60% methanol			
60% methanol extract			
DEAE-Sephadex A-25 column chromatography			
0.04M NaCl-60% methanol eluate (FA-2) (<50 μ g)	126,000	60.0	1,672,600

Fig. 2. Schematic diagram for isolating SRS-A from guinea pig lung. Guinea pigs were sensitized by monthly peritoneal injection of 1 μ g of benzylpenicilloyl bovine gamma globulin [(BPO)₆₃BGG] plus 1 mg of Al(OH)₃. Ten to 14 days after the last injection, the animals were sacrificed by exsanguination and the lungs were cleared of blood by perfusion with Tyrode's solution *via* the pulmonary artery. Sensitized guinea pig lungs were washed, cut into small pieces, and suspended in Tyrode's solution as described in methods. The suspension was incubated with 0.1 mg of (BPO)₆₃BGG/ml and the cell-free medium collected from the lungs of 600 guinea pigs was lyophilized (crude SRS-A).