

[Life Sciences, 25, 1909 (1979)]

**Slow reacting substances from ionophore A23187-stimulated basophilic leukemia cells and peritoneal mast cells in the rat. I. Purification and comparison during sequential Sephadex LH-20 and thin layer chromatography.**

LEWIS D. YECIES, CHARLES W. PARKER, SHIGEKATSU WATANABE

**Ionophore A23187 によるラットの好塩基性白血病細胞および腹腔肥満細胞から遊離する slow reacting substance. I. Sephadex LH-20 および薄層クロマトグラフィーによる精製と比較**

LEWIS D. YECIES,\* CHARLES W. PARKER, \*渡辺茂勝

Radiolabeled[1- $^{14}\text{C}$ ] arachidonic acid( $^{14}\text{C}$ -AA) 共存下に, rat basophilic leukemia (RBL-1) cell および rat peritoneal mast cell に Ca ionophore A23187 を作用させて遊離する slow reacting substance (SRS) を分離精製し, それぞれの SRS のクロマトグラフィー上での態度を比較検討した。RBL-1 または mast cell に  $3 \times 10^5$  DPM  $^{14}\text{C}$ -AA および  $5 \mu\text{g/ml}$  A23187 を作用させた後, その medium を  $\text{N}_2$  気流中で乾燥して 80% ethanol で抽出し, 抽出液の遠心上清に Sephadex LH-20 を加えて減圧下に乾燥し, ethylacetate を加えた。これを column に充填し, ethylacetate, acetone, chloroform : n-butanol (1 : 2), n-butanol および 7% 含水 n-butanol の順に洗滌, 溶出した。RBL-1 および mast cell の SRS はいずれも 7% 含水 n-butanol によって溶出され, その bioactivity としての回収率は 80~95% であった。一方,  $^{14}\text{C}$ -AA 由来の radioactivity の 90% 以上が ethylacetate および acetone 分画中にみとめられ, 7% 含水 n-butanol 分画中には約 2% の radioactivity がみとめられた。この Sephadex LH-20 による adsorption chromatography は, SRS 精製の first step に用いられてきた silicic acid や Amberlite を carrier にした場合よりも回収率および精製度がすぐれている。つぎに 80% ethanol を solvent として Sephadex LH-20 による gel chromatography を行った。RBL-1 および mast cell のいずれの SRS も VE/VB がほぼ同値を示す部位 (M.W. 約 400) に一峰性の活性がみられたが, ついで行った 7% 含水 n-butanol を solvent とする Sephadex LH-20 の partition chromatography では RBL-1 の SRS の activity は 2 つの分画にみられ, さらにその main bioactive peak には shoulder が認められた。一方, mast cell の SRS は RBL-1 の SRS の main peak とほぼ同じ溶出部分に bioactivity がみられた。partition chromatography からの RBL-1 の main bioactive 分画と mast cell のそれとを high performance thin layer plate 上で two dimensional chromatography (1st solvent ; n-propanol : ammonia : water = 6 : 3 : 1, 2nd solvent ; propanol : water = 3 : 1) を行ない, radioactivity および bioactivity を検索した。RBL-1 の SRS は 2 つの, mast cell の SRS は 1 つの spot に SRS activity がみられ, radioactivity の spot と bioactivity の spot は完全に一致した。これらの成績は RBL-1 の SRS は少なくとも 3 種の SRS からなることを示し, RBL-1 および mast cell の SRS はいずれも AA の metabolite であることを示す。また, mast cell の SRS は RBL-1 の SRS の一種と同一か,あるいは類似のものと思われる。

\* ワシントン大学医学部