

# *Trichomonas foetus* ライボソームの分離と

## デオキシコール酸ソーダ処理の影響

伊藤 義博

徳島大学医学部寄生虫学教室 (主任: 尾崎文雄教授)

(1969年2月17日 受領)

### 緒言

タンパク質合成におけるライボソームの重要な役割が注目されて以来、その組成と性状の分析が行なわれているが、原生動物(原虫)においても *Tetrahymena pyriformis* (Seaman, 1962), *Crithidia oncopelti* (Chesters, 1966), *Paramecium aurelia* (Reisner & Macinda, 1967) のライボソームによるアミノ酸取り込みの研究が行なわれた。又 Morgan *et al.* (1968) は *Entamoeba invadense* のシストからライボソームを分離する方法を検討し、その理化学的性状について報告した。*Trichomonas foetus* では岡・尾崎(1966), 岡ら(1967), 山川(1968b)がマウス実験トリコモナス症に対する特異抵抗性の研究で、原虫のマイクロソームに防御抗原性が局在し、更にその抗原活性情報がライボソームにあることを示唆した。又岡・尾崎(1966), 岡ら(1966, 1967), 山川(1968a)は *T. foetus* のマイクロソームをデオキシコール酸ソーダ(Na-DOC)処理によりライボソームを濃縮し、その性状を検討した。しかし既報(伊藤, 1968)のごとく、マイクロソーム画分のNa-DOC処理はライボソームを濃縮できるが、なおいくらかの膜質の残存と同時に基本粒子の解離(亜粒子化)を来たした。したがって Na-DOC 処理を採用する場合は亜粒子化の現象を防止し、同時に他の混在物を除く手段が必要である。そこでホモジネート溶媒に10mM Mg<sup>++</sup>を安定剤(Chao & Schachman, 1956)として添加し、遠心分画の過程での亜粒子化を抑え、更にシヨ糖密度勾配遠心法で精製分離する方法を試みた。この条件で得られたライボソームについては、まず Na-DOC 処理後の画分(CR 分画)を遠心分析して粒子解離の検討を行ない、更にその純度を理化学的ならびに形態的に観察し、この実験条件の適否を考察した。又ライボソーム粒子に及ぼす Na-DOC 処理の影響については、末処理の CR

分画を対照に、シヨ糖密度勾配遠心法で粒子の分布を求め両者の差異から追求した。

### 実験材料及び方法

#### 1. 供試原虫

供試原虫に選んだ *T. foetus* の由来と、培養液は既報(伊藤, 1968)と同一であり、約40時間の発育虫体を使用した。

#### 2. 方法

原虫ホモジネートの作製: 培養虫体を数回生理食塩水で洗浄後、トリス緩衝液 A (50mM tris-HCl buffer (pH 7.6), 10mM MgCl<sub>2</sub>, 25mM KCl) の少量に懸濁し、テフロンホモジナイザーで約20分磨砕し、最終的に20% w/v ホモジネートになるようトリス緩衝液Aで調製した。

CR 分画の調整: ホモジネートから Table 1 に示した遠心分画と Na-DOC 処理により粗ライボソームを得た。この沈渣は Fig. 1 のごとく2層になったので、上層(Sed Ru)を軽くトリス緩衝液 B (1mM tris-HCl buffer (pH 7.6), 1mM MgCl<sub>2</sub>) で洗い分離し、下層(Sed Rd)も同一緩衝液に懸濁して共にホモジネート量の 1/10 とした。

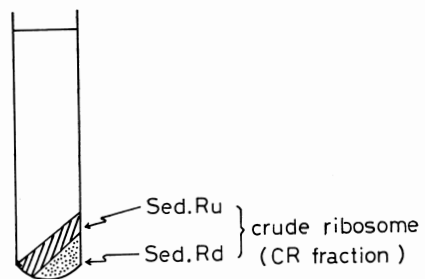


Fig. 1 Schematic representation of sediments of crude ribosome from *T. foetus* homogenate.

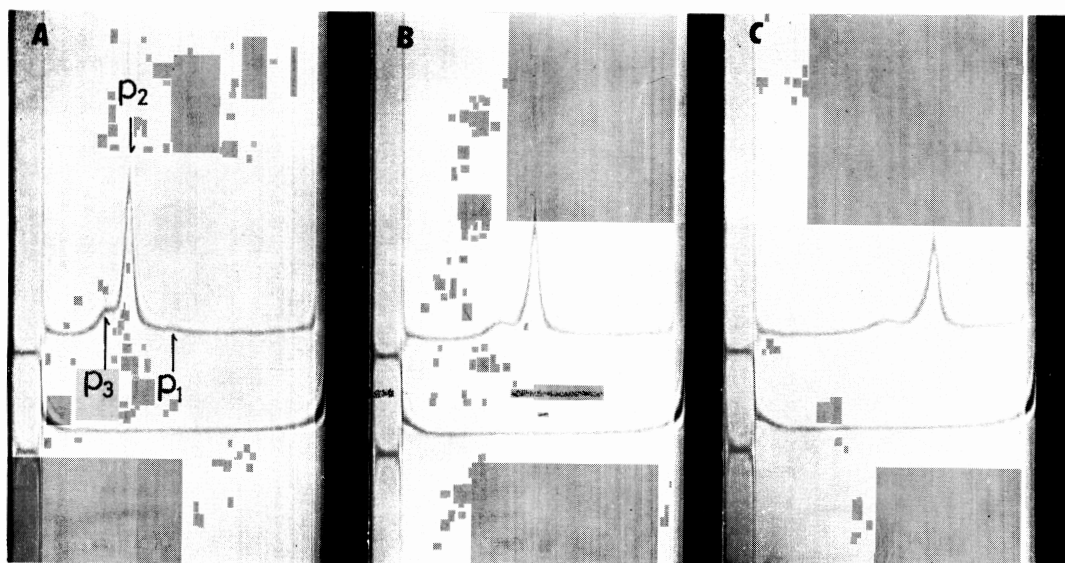


Photo 1 Analytical centrifugation patterns of crude ribosome (top) and RNase-treated crude ribosome (bottom) from *T. foetus*. sedimentation : at 37,290rpm for 9min (A), 15min (B) and 21min (C), solvent : 1mM tris-HCl buffer (pH 7.6), 1mM MgCl<sub>2</sub> diaphragm angle : 65° temperature : 13°C

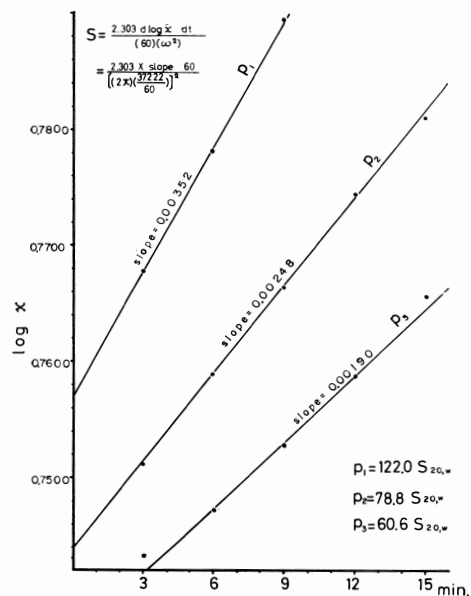
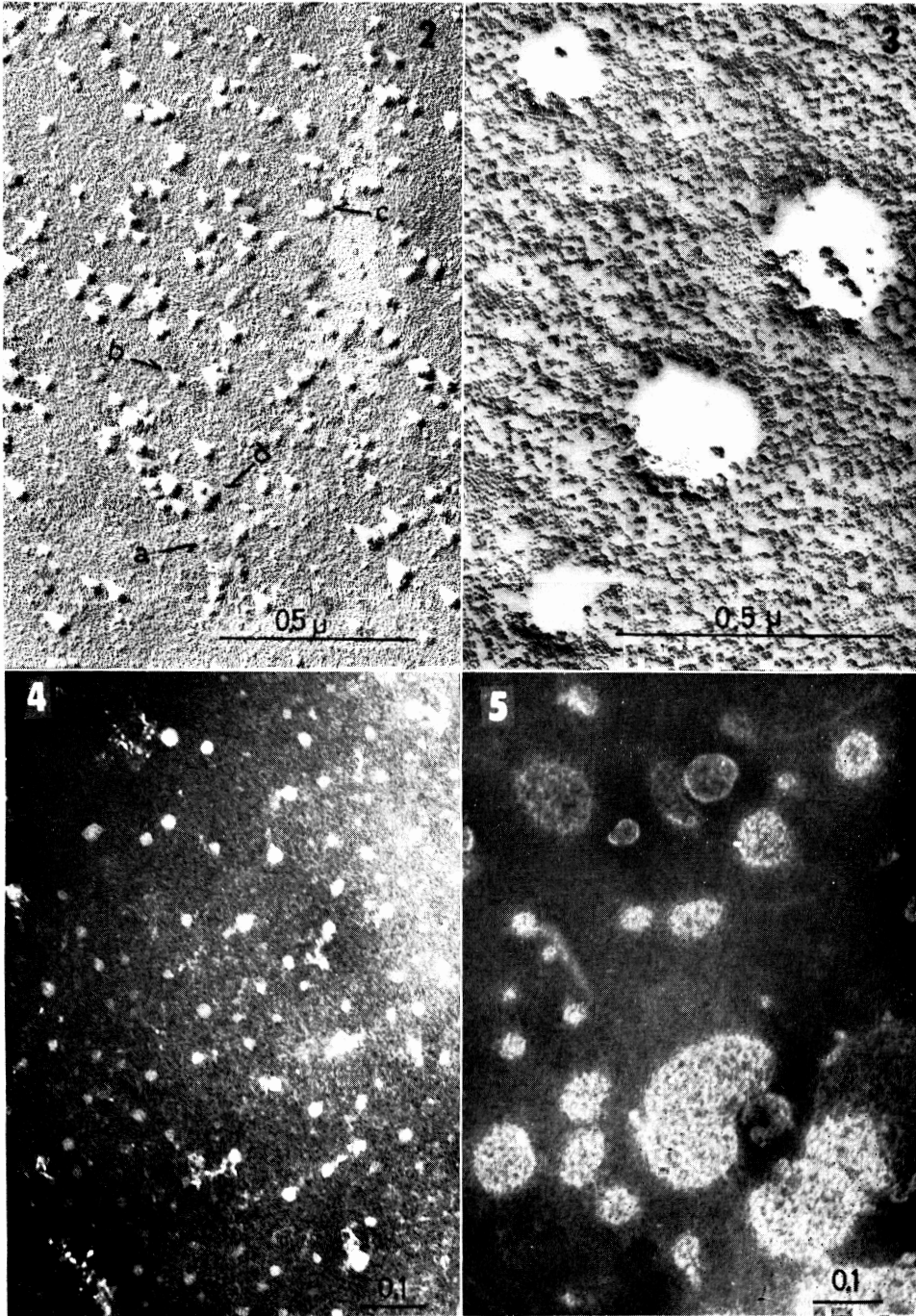


Fig. 2 Determination of sedimentation coefficient of *T. foetus* ribosomes from a plot of log x (distance between the boundary and the axis of rotation) versus t (time in minutes)  $\omega$  : angular velocity

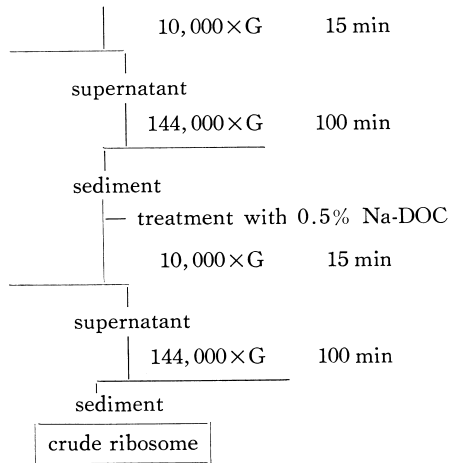
$$S_{20,w} = S \left( \frac{\eta t, \omega}{\eta_{20}, \omega} \right) \left( \frac{\eta_0}{\eta t, \omega} \right) \left( \frac{1 - V_{20} \rho_{20}, \omega}{1 - V t \rho t} \right)$$



Photos 2 and 3 Electron micrographs of ribosomal particles in Sed Ru (Photo 2) and glycogen granules in Sed Rd (Photo 3) from *T. foetus* ribosomes (shadowed preparation with metal casting).

Photos 4 and 5 Electron micrographs of No. 8 (Photo 4) and No. 20 (Photo 5) fraction of sucrose density gradient (negative stained with 2% phosphotungstate).

Table 1 Preparing procedure of crude ribosome from *T. foetus* homogenate  
20% w/v homogenate\* of *Trichomonas foetus*



\* solvent : 50 mM-Tris-HCl buffer (pH 7.6)  
10 mM-MgCl<sub>2</sub>, 25 mM-KCl

核酸及びタンパク質の測定：核酸は自記分光光度計(日立 EPS-3 型)で波長220~320m $\mu$ を測定し, RNAの分子吸光係数  $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 213 : 47\mu\text{g} = 1,000 \text{OD}_{260}$  (Fleck & Munro, 1962) として算出した. タンパク質は Lowry *et al.* (1951) の方法に準じて測定し, 標準物質には牛血清アルブミン(シグマ社)を使用した.

電顕観察法：コロジオン膜をはった電顕用マイクログリッドに試料の1滴をのせ, ただちに濾紙片で過剰の液を除いて乾燥し, 一部は白金パラジウムで金属投影 (Rich *et al.*, 1968) し, 他は3%リン・タングステン酸 (pH 6.4) で陰性染色 (小田, 1966) して観察した. 使用した電顕は日立 Hu-11S 型で, 観察は75KV 20,000倍で実施した.

シヨ糖密度勾配遠心法：トリス緩衝液Bを溶媒にして3~5%及び20%のシヨ糖液を作製し, 両液を密度勾配作製装置(日立 DGK 型)で直線型密度勾配液とし, 5°Cに3時間放置後, 4.5mlの勾配液に0.5mlの試料をのせ, 日立RPS-40型スイングローターを用いて25,000rpm又は40,000rpm 15°Cで遠心した. 遠心後ただちに遠心管の底に穴をあけ1/2mm径注射針を通して管底より滴下, 分画した.

遠心分析法：CR分画を15mg/ml RNAに調整し一部を分析用シングルセルに入れ, 他は0.5mg/ml 蔴リボヌクレアーゼ (RNase) で37°C 30分処理してウエジウインドセルに入れ, 両者を同一条件で測定した. 設定回転

数37,290rpm. 平均温度13°C, シユリーレイダイアフラグ65°, 設定回転数に達してただちに3分毎に撮影(露出時間3秒)した. 使用した装置は日立UCA-1型超遠心分析機で, 沈降恒数(S)及び水20°Cにおける沈降恒数(S<sub>20,w</sub>)はSchachman (1957)の方法に準じて算出した.

## 実験結果

### 1. 遠心分析

CR分画を試料として測定した結果, 3つのピーク(P<sub>1</sub> P<sub>2</sub> 及び P<sub>3</sub>)を認めた. これらピークはRNase処理で消失したことからライボソーム由来であると判断でき (Photo 1), 中でもP<sub>2</sub>は最も高く尖鋭で, 設定回転数に達して後27分においても明瞭なピークを維持した. P<sub>3</sub>は測定開始3分後P<sub>2</sub>の肩(Photo 1で左肩)に現われ, 21分後にはP<sub>2</sub>より分離したが低いピークであった. P<sub>1</sub>は他よりも速く沈降し, 3分後P<sub>2</sub>のすそにピークとして現われ, 9分後(Photo 1A)P<sub>2</sub>より分離したが15分以後消失した. 以上3つのピークの沈降恒数はFig. 2に示すごとく, S<sub>20,w</sub>はP<sub>1</sub>=122.0, P<sub>2</sub>=78.8及びP<sub>3</sub>=60.6であった.

### 2. CR分画の沈渣(Sed Ru, Sed Rd)の性状

#### 1) 電顕所見：

本画分の沈渣はFig. 1のごとく2層を形成し, 上層(Sed Ru)は黄褐色, 下層(Sed Rd)は粘性高く白色を呈していた. この上層部はトリス緩衝液Bで洗浄して流し出すことができたので, 両者は簡単に分離された. 両層の形態上の差異はグリコーゲン果粒がSed Rdにきわめて多く認められた(Photo 3)ことで, その他の膜質もかなり混在した. ライボソーム粒子としては4種の大きさが認められ (Photo 2), a粒子は5m $\mu$ , b粒子は10m $\mu$ , C粒子は20m $\mu$ 前後の大きさで, d粒子はb及びC粒子の複合体であった. Sed Rdにはこれら4種の粒子を認めたが, Sed Rdではa粒子はきわめて少なく, d粒子が高い濃度で分布した.

#### 2) 理化学的性状：両層の紫外外部吸収測定の結果

Table 2 RNA: protein ratio in crude ribosomes of *Trichomonas foetus*

| crude ribosome            | RNA (mg/ml) | protein (mg/ml) | RNA/protein |
|---------------------------|-------------|-----------------|-------------|
| upper sediment (Sed. Ru.) | 5.2         | 6.5             | 0.82        |
| bottom sediment (Sed. Rd) | 1.9         | 4.2             | 0.45        |

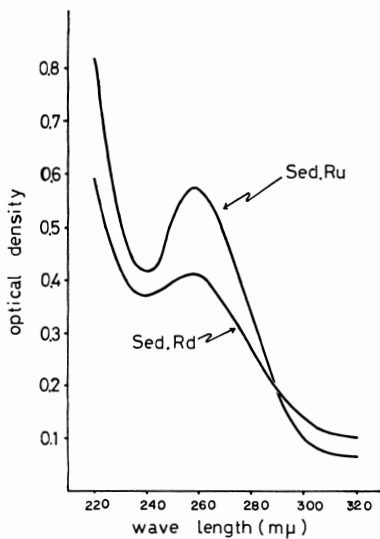


Fig. 3 Ultraviolet absorption of upper sediment (Sed Ru) and bottom sediment (Sed Rd) of crude ribosome fraction from *T. foetus* solvent: 1mM tris-HCl buffer (pH 7.6), 1mM MgCl<sub>2</sub>

(Fig. 3), Sed Ru の吸収極大は258m $\mu$ (吸光度=0.575) 吸収極小は240m $\mu$  (吸光度=0.415), 258/240m $\mu$  の吸光度比は1.39であった. 又 Sed Rd の吸収極大は258m $\mu$ (吸光度=0.420), 吸収極小は240m $\mu$  (吸光度=0.370) 258/240m $\mu$  の比は1.14を示し, 両者の極大・極小吸収波長は同一で, 共に核酸由来の吸光度曲線であった. しかし258m $\mu$  の吸光度は Sed Ru が高く (Fig. 3), これに含まれる核酸は Sed Rd より多量であることが判明したので, 両者の核酸及びタンパク質量を測定して Table 2の結果を得た. すなわち, Sed Ru 1ml 当たりの RNA は5.2mg, タンパク質は6.5mg RNA/タンパクは0.82, Sed Rd 1ml 当たりの RNA は1.5mg, タンパク質は4.2mg, RNA/タンパクは0.45であった.

3) ショ糖密度勾配遠心: 両層を個々に3~20%直線型ショ糖密度勾配液にのせ40,000rpm(日立 RPS-40ローター) 100分遠心し, 遠心管底(20%ショ糖濃度)より No. 1~21の画分に分画した. Sed Ru における各画分の260m $\mu$  吸光度は(Fig. 4), No. 1から No. 8(ピーク b, 吸光度=0.83)まで次第に増加し, 以後 No. 13まで漸減し No. 16から No. 20(ピーク C)まで急激に上昇して No. 21でわずかに減少した. Sed Rd の各画分では, No. 1で Sed Ru の約4倍の吸収があり, No. 3までわずかに減少するが, 以後 No. 7まで再び

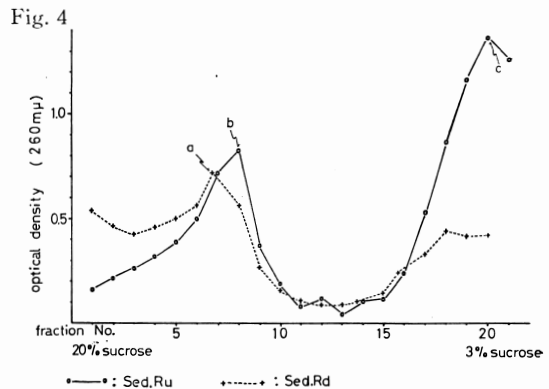


Fig. 4 sucrose density gradient patterns of Sed Ru and Sed Rd of crude ribosome from *T. foetus*. sedimentation: at 40,000rpm for 100 min temperature: 7°C solvent: 1mM tris-HCl buffer (pH 7.6), 1mM MgCl<sub>2</sub>

Table 3 RNA: protein ratio in two different fractions of sucrose density gradient sedimentation of *Trichomonas foetus*

| fraction No. | RNA ( $\mu$ g/ml) | protein ( $\mu$ g/ml) | RNA/protein |
|--------------|-------------------|-----------------------|-------------|
| 8            | 150               | 135                   | 1.11        |
| 20           | 248               | 100                   | 2.48        |

増加してピーク(ピーク a, 吸光度=0.72)をなして No. 12まで減少し, 次いで No. 18まで漸増した. しかし No. 17から No. 20までの吸光度は Sed Ru に比較してかなり低かった. Sed Ru で高い吸光度を示した2つの画分(No. 8, ピーク b: No. 20, ピーク C)について核酸及びタンパク質量を測定した結果, No. 8, 1ml 当たりの RNA 及びタンパク質量は150 $\mu$ g 及び135 $\mu$ g RNA/タンパクは1.11で, No. 20, 1ml 当たりの RNA 及びタンパク質量は248 $\mu$ g 及び100 $\mu$ g, RNA/タンパクは2.48であった (Table 3). 又 No. 8における細胞構造物の分布は, 膜質がきわめて少なく, 20~30m $\mu$  のライソソーム粒子が多かった (Photo 4). 一方 No. 20には多数の膜質が存在し (Photo 5), ライソソーム粒子の大半は約10m $\mu$  の大きさであった.

### 3. CR 分画のショ糖密度勾配遠心

Na-DOC 処理の CR 分画及び無処理の同一分画を, それぞれ7mg/ml RNA 及び10mg/ml RNA に調整し, 5~20%直線型ショ糖密度勾配液にのせ25,000rpm(日立

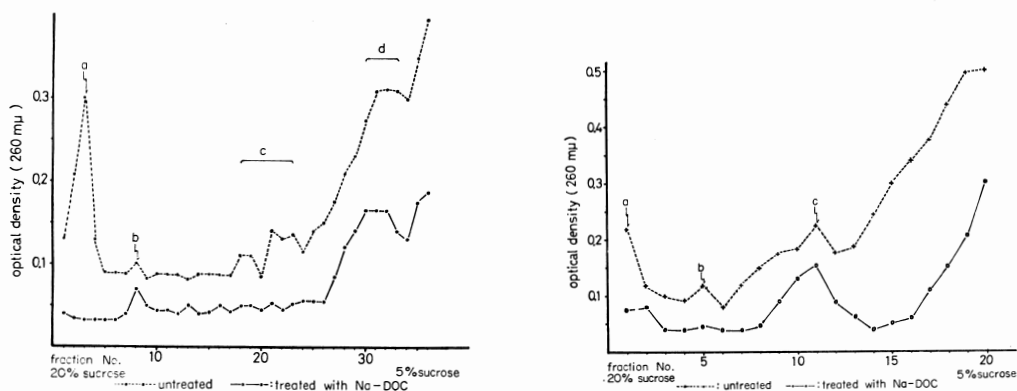


Fig. 5 and 6 Sucrose density gradient patterns of crude ribosome treated or untreated with sodium deoxycholate speed: 25,000rpm 60min (Fig. 5), 40,000rpm 90 min (Fig. 6)  
rotor: Hitachi RPS-40, solvent: 1mM tris-HCl (pH 7.6), 1mM MgCl<sub>2</sub>

RPS-40ローター) 60分遠心, 36画分に分画して260m $\mu$ 吸光度を測定し Fig. 5の結果を得た. すなわち Na-DOC 無処理の試料で, No. 3, No. 18~23 (Fig. 5 a, c) の画分に存在した粒子は Na-DOC 処理で消失し, No. 8及び No. 30~33 (Fig. 5 b, d) は処理の影響を受けていなかった. 同様の試料を40,000rpm 90分の条件で遠心し小さい粒子について検討した結果では (Fig. 6), No. 1 (Fig. 6 a) 及び No. 5 (Fig. 6 b) の画分に存在する粒子は認められなかったが, No. 11 (Fig. 6 c) は Na-DOC 処理後も260m $\mu$ の吸収があり, この画分の粒子は Na-DOC 処理で影響を受けなかったことを示している. 低速又は高速いずれの場合においても, Na-DOC 処理の影響を受けたのは, ショ糖濃度の高い画分に回収される粒子, すなわち大きな粒子であったといえる.

#### 総括ならびに考案

遠心分画法は, ライボソーム分離に重要な手段であり肝細胞のごとく粗面小胞体由来のライボソーム (膜附着ライボソーム) が多い場合は, Na-DOC 等の界面活性剤処理で膜と粒子の分離が行なわれている. *T. foetus* の膜附着ライボソームは肝細胞と比較して少量であるが, Na-DOC 処理は小胞化した膜構造物を可溶化し, 分離を円滑にするためにも有効である. 岡・尾崎 (1966), 岡ら (1966, 1967) 及び山川 (1968a) はこの方法で多数のライボソームを回収したが, これらの方法でも膜質の除去は不十分であり (伊藤, 1968), 更に分離の過程で粒子の分解が起こっていると考えられた. そこで, Chao & Schachman (1956) の研究以来ライボソームの安定

剤として知られている Mg<sup>++</sup> を 5mM 濃度まで上げて遠心分画を実施した. Mg<sup>++</sup> 濃度とライボソーム粒子の関係について, 前田 (1961) は70~80S粒子は1mM程度で安定で, 濃度を5~10mMに上げると100~120S成分が増加し, 逆に濃度を減らすと30~40S及び50~60Sがふえてくると述べた. 又ライボソームの溶液に EDTA 等のキレート剤を加え Mg<sup>++</sup> を除去すると粒子は不可逆的解離を起こすことが明らかにされている (田代, 1965). 原生動物の領域では, Reisner & Macindoe (1967) は *Paramecium* を素材とし 5mM MgCl<sub>2</sub> をホモジネート溶媒に添加して分画したライボソームは, 大半が80Sで Mg<sup>++</sup> を除去すると45Sと30Sに解離すると報告した. 又 Morgan *et al.* (1968) は *Entamoeba invadens* のシストからライボソームを分離する条件を検討し, RNase の阻害を目的にベントナイト, 0.25mM Ca<sup>++</sup>, 0.25mM Mn<sup>++</sup> 及び 1mM Mg<sup>++</sup> の添加で75Sライボソームを回収した. これらのことより *T. foetus* で認めたライボソームの亜粒子化 (伊藤, 1968) は, Mg<sup>++</sup> の低濃度が1因と考えられるので, これを追求するため本実験を行ない, その結果を遠心分析で検討した.

又実験過程で粗ライボソーム分画の沈渣が2層を形成したので, 両層に含まれるライボソーム及び混在物の組成を検討し, 合わせてショ糖密度勾配遠心法で細分画して混在者除去の程度を画分の化学分析及び電顕所見から考察した.

更に, 亜粒子化の原因に Na-DOC 処理の影響が考慮されるので, Na-DOC 未処理のライボソーム分画を対照としてショ糖密度勾配遠心法で解析した. 以上の結果を総括すると次のごとくである.

### 1. ライボソームの沈降恒数

*T. fetus* ライボソームの沈降恒数は83及び43S (岡・尾崎, 1966), 79.5, 53.5及び41.9S (岡ら, 1967) と報告され, いずれも Na-DOC 処理を行わずに分画した画分で遠心分析されたものである. 今回の実験で得られた沈降恒数 ( $S_{20,w}$ ) から122.0はダイマー, 78.8は基本粒子, 60.6は亜粒子であることが推定され, *T. fetus* ライボソームは酵母型 (基本粒子80S) であると考えられる. 又沈降像における主ピークが78.8Sの基本粒子であったことは, 粒子の解離が少なく, 大半が安定な状態で回収されたことを示唆している. なお今回測定できなかった小亜粒子の沈降恒数については, 岡ら (1967) の報告した41.9S がこれに相当するものと思う.

### 2. CR 分画の組成

遠心分画物のライボソーム純度を判定する場合, 高浪 (1965) は精製ライボソームの258/240 $\mu$  比の1.6を標準に純度検定を行ない, タンパク混入の多いときは極小値が長波長にずれると述べ, 三井 (1967) によればライボソームは一般に RNA/タンパクが1.0近辺の値をとると記録されている. これらのことから本実験の成績を検討すると, Sed Ru における258/240 $\mu$ =1.39, RNA/タンパク=0.82であったので, 上層部には比較的高い純度でライボソームが回収されたと判断できる. 一方 Sed Rd の場合は, 258/240 $\mu$ =1.14, RNA/タンパク=0.45, であったので, Sed Ru より純度が悪く, 更に両層 (Sed Ru 及び Sed Rd) の吸光度にかなりの差があったこと (Fig. 3) からみて, Sed Ru には多量にしかも高純度で濃縮されたと考えられる. このことは電顕所見でも認められ, Sed Ru には多量のライボソームが観察されたが, Sed Rd にはきわめて少量で, 大半はグリコーゲン果粒であった (Photo 2及び3). すなわち両層に組成上の差異があり, 下層が白色粘性を呈したことは多量のグリコーゲンに起因するもので, ライボソームの分類に際してしばしば問題になるグリコーゲンの混在は, 上層 (Sed Ru) のみの回収でかなり除去されると思う.

しかし電顕所見で上層には膜質の混在があり, 更に純度を高めるためにはこれを除去する必要がある. そこで両層をシヨ糖密度勾配液により細分画した結果 (Fig. 4), ほぼ同一シヨ糖濃度の画分 (No. 8ピーク b; No. 7ピーク a) に260 $\mu$  の高い吸収ピークを認めた. このことは両層に共通の大きさをもつライボソーム粒子が含まれることを表わし, この粒子は Photo 4 の電顕所見から基本粒子及び亜粒子であると判断される. 更にこの画分

(No. 8) の RNA/タンパクの値が1.11であり, 又電顕的に混在物がきわめて少ない等のことから高純度のライボソームが回収されたといえる. 一方 Fig. 4 における吸光度とシヨ糖密度の関係から, Sed Rd (No. 1~5) には大きな粒子が, Sed Ru (No. 17~20) には亜粒子より小さい粒子が多いと推定でき, Sed Ru No. 20で多数の膜質が認められたこと (Photo 4) は CR 分画の混在物が本画分に移行したためと思われる.

以上のように, シヨ糖密度勾配遠心法による CR 分画の精製は一応成功したと思うが, 今回の方法で得られるライボソームは防御免疫の抗原としては量的に不足であり, 又亜粒子以下の小粒子の産生は解離現象を考えさせられるので, 今後の検討の余地が残されている.

### 3. Na-DOC 処理とライボソーム粒子

ライボソームの分離過程で, Na-DOC 処理が RNA 粒子の解離を来たすことが考えられる (伊藤, 1968) ので, この点をシヨ糖密度勾配遠心で検討した.

低速 (25,000rpm) シヨ糖密度勾配遠心 (Fig. 5) は, 重い粒子に対する Na-DOC 処理の影響をみるために行ない, その結果シヨ糖濃度の高い画分で著明な変化を認めた. すなわち無処理の場合, 高い吸光度をもつ4つの画分 (Fig. 5, No. 1~4) には, シヨ糖濃度からみてポリゾームもしくは膜付着ライボソームの存在が考えられる. しかし膜付着ライボソームの場合には, a のごとく尖鋭なピークを形成しないので, このピークはポリゾーム又は RNA 粒子の疑集体と考えた方が妥当と思う. したがって Na-DOC 処理によるこのピークの消失は, ポリゾーム等の重い粒子群の開裂を意味するものと考えられる. 膜付着ライボソームに相当するピークは c (Fig 5) にみられ, これも処理により消失していた. なお Na-DOC の影響をうけない RNA 粒子 (b 及び d ピーク) も認められた.

低速で観察しがたい軽い粒子に対して, 高速 (40,000 rpm) によるシヨ糖密度勾配遠心で Na-DOC 処理の影響をみた. その結果, a 及び b ピーク (Fig. 6) の消失があり, 比較的重い粒子が Na-DOC 処理の影響をうけ解離していた. しかし c ピーク (Fig. 6) は処理・無処理いずれの場合も差異を認めなかった. この c ピークは CR 分画の分析 (Fig. 4) において, 基本粒子及び亜粒子を分離した画分 No. 8に相当するので, 両粒子は Na-DOC 処理で影響がなかったといえる. 又 No. 15以上の画分で処理後に吸光度の上昇をみたのは, 粒子の解離が起こったとも考えられるので, 溶媒及び温度の

影響のみならず, Na-DOC の処理でいくらかの解離が進行することも否めない。

### 結 論

*Trichomonas foetus* のライボソーム分離の条件を検討するため, 虫体のホモジネートを12,000×Gで遠心し, その上清を更に144,000×Gで遠心して沈渣を回収した。これをデオキシコール酸ソーダ (Na-DOC) で処理してライボソームを分画し, その性状, 純度及び Na-DOC 処理の影響を, 遠心分析, ショ糖密度勾配, 電顕観察及び化学分析によって検討し次の結果を得た。

1. 5 mM Mg<sup>++</sup> 添加のホモジネート溶媒を使用して得られたライボソーム粒子の沈降恒数は122.0, 78.8及び60.6S<sub>20w</sub> で, 78.8S<sub>20w</sub> (基本粒子) がもつとも多量であった。

2. ライボソーム分画にはグリコーゲン果粒及び膜質が混在した。しかしグリコーゲン果粒は遠心分画のとき沈渣の下層部に集まりペレットを形成したので, 上層部の回収で大半のグリコーゲンを除くことができ, 更にこれをショ糖密度勾配液で遠心して高い純度 (RNA/タンパク=1.11) のライボソームを分離することができた。

3. ショ糖密度勾配遠心分析の結果, ライボソームに対する Na-DOC の処理は大きな粒子 (ポリゾーム) に解離を起こさせるが, 基本粒子及び亜粒子には変化を認めなかつた。

稿を終わるに臨み, 御指導, 御校閲を賜わつた恩師尾崎文雄教授ならびに徳島大学養護教諭養成所岡好万教授に深甚の謝意を表します。

### 文 献

- 1) Chao, F. C. and Schachman, H. K. (1956) : The isolation and characterization of a macromolecular ribonucleoprotein from yeast. Arch. Biochem. Biophys., 61, 220-230.
- 2) Chesters, J. K. (1966) : Protein synthesis by cell free extracts of *Crithidia oncopelti*. Biochim. biophys. Acta, 114, 385-397.
- 3) Fleck, A. and Munro, H. N. (1962) : The precision of ultraviolet absorption measurements in the Schmidt-Thannhauser procedure for nucleic acid estimation. Biochim. biophys. acta, 55, 571-583.
- 4) 伊藤義博 (1968) : 遠心分画法による *Trichomonas foetus* 細胞構造物の分離と化学的性状. 寄生虫誌, 17, 494-507.
- 5) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) : Protein measurement with the folin phenol reagent. J. biol. Chem., 193, 265.
- 6) 前田章夫 (1961) : リボゾーム—マグネシウムの役割を中心に—。蛋白質・核酸・酵素, 6, 713-723.
- 7) 三井宏美 (1965) : 現代の生化学 (上)。リボゾーム, 第1版, 249頁, 化学同人, 京都。
- 8) Morgan, R. S., Slayter, H. S. and Weller, D. L. (1968) : Isolation of ribosomes from cysts of *Entamoeba invadens*. J. Cell Biol., 36, 45-51.
- 9) 岡好万・尾崎文雄 (1955) : 原虫細胞の免疫原性の解析17 *Trichomonas foetus* の intracellular components の遠心分析. 医学と生物学, 73, 16-19.
- 10) 岡好万・伊藤義博・山川敬止・新里仁達・尾崎文雄 (1967) : 原虫細胞の免疫原性の解析18 *Trichomonas foetus* の microsomes および最終上清の subcomponents. 医学と生物学, 74, 269-273.
- 11) 岡好万・伊藤義博・新里仁達・尾崎文雄 (1967) : 原虫細胞の免疫原性の解析20 *Trichomonas foetus* の microsome から分離した膜構造と ribosome の防御抗原性. 医学と生物学, 75, 17-20.
- 12) 小田琢三 (1966) : 構造と機能の研究への電子顕微鏡の応用. 蛋白質・核酸・酵素, 11, 73-80.
- 13) Reisner, A. H. and Macindoe, H. (1967) : Incorporation of amino acid into protein by utilizing a cell-free system from paramecium. J. gen. Microbiol., 47, 1-15.
- 14) Rich, A., Penman, S., Becker, Y., Darnell, J. and Hall, C. (1963) : Polyribosomes: Size in normal and polio-infected HeLa cells. Science, 142, 1658-1663.
- 15) Schachman, H. K. (1957) : Method in Enzymology, Vol. IV, 32pp.
- 16) Seaman, G. R. (1962) : Protein synthesis by kinetosomes isolated from the protozoan *Tetrahymena*. Biochim. biophys. acta, 55, 889-899.
- 17) 高浪満 (1966) : リボゾームおよび S-RNA の調製法—主として動物細胞からの—。蛋白質・核酸・酵素, 11, 490-500.
- 18) 田代裕 (1965) : 肝細胞におけるタンパク合成と膜系との関連. 蛋白質・核酸・酵素, 10, 151-156.
- 19) 山川敬止 (1968a) : *Trichomonas foetus* の石英砂 cell homogenate からの遠心分画物の理化学的性状. 寄生虫誌, 17, 19-26.
- 20) 山川敬止 (1968b) : *Trichomonas foetus* の cell homogenate (石英砂磨砕による) からの遠心分画物の電子顕微鏡観察と防御抗原性の分析. 寄生虫誌, 17, 106-114.



**Abstract**ISOLATION OF RIBOSOMES FROM *TRICHOMONAS FOETUS* HOMOGENATE  
AND EFFECTS OF TREATMENT WITH SODIUM DEOXYCHOLATE ON IT

YOSHIHIRO ITO

*(Department of Parasitology, School of Medicine, Tokushima  
University, Tokushima, Japan)*

Attempts were made to find satisfactory conditions of isolation of *Trichomonas foetus* ribosomes by means of physicochemical analyses and electron microscopic observations.

Sedimentation coefficients of ribosome particles in crude ribosome obtained by the use of differential centrifugal fractionation and treatment with sodium deoxycholate were 122.0 (dimer), 78.8 (monomer), and 60.6 (subparticle)  $S_{20,w}$ . The highest yields were seen in monomers.

Ribosomes were isolated in a certain fraction of sucrose density impurities, glycogen granules and membrane structures were being eliminated.

Treatment with sodium deoxycholate resulted in dissociations of polyribosomes or aggregated large ribosomes whereas there were no influence on monomers and subparticles by the treatment.