

## CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響

岡山大学医学部第一生理学教室 (指導: 西田 勇教授)

大学院生 日野道夫

〔昭和37年9月24日〕

1958年, 西田等<sup>33)</sup>は猫の動眼神経を切断した後, 長時間経過すると極度に散大した瞳孔が急に縮小し始め, 遂には細線状にまで縮腫する現象を見出した。更に, この現象を実験的に分析し, 縮腫現象の出現する原因や本態について探索した。それによると, この縮腫現象は強力な縮腫作用をもつた物質に基因し, しかも当該物質は恐らく角膜から浸出したものであると報告している。又, この縮腫物質は海猿の小腸の運動には促進的に働き, 囊の下肢血管には拡張作用のある事を見出した。その後, 福井(1958)<sup>17)</sup>は牛の角膜から縮腫作用を有する物質の抽出に成功し, 化学的性質から或る種の蛋白であろうと考え, この物質を CORNIN と命名した。そして histamine, acetylcholine, substance P, enteramine (5HT), darmstoff, bradykinin や irin とは異なる物質であると報告した。又, 門(1961)<sup>20)</sup>は同様な物質が, 家兎肉からも抽出され, cornin は加水分解後も縮腫作用が残存すると述べ, 宮原(1959)<sup>29)</sup>は cornin の生物学的作用を探索し, 平滑筋運動の亢進, 血管拡張, 血圧下降の性質のある事を報告した。

一方, ここ数年の間に生物学的活性 polypeptides に興味をもつ研究者が増加し, 論文の数もかなりふえて居り, 世界的に注目されているテーマとなつた(1962)<sup>30)</sup>。即ち, bradykinin, kallidin, plasmin, plasmin, substance P 等がそれである。その生物学的作用は, 平滑筋刺激と血圧下降作用であり, そのうち bradykinin, kallidin はアミノ酸組成も判明し, 合成にも成功している現状である。

又, 組織培養の領域でアミノ酸のとり込みや, とり込まれたアミノ酸が必須のもの, 不必要なもの, 或は却つて増殖を阻害する性質を有するもの等が, Waymouth(1954)<sup>38)</sup>, Morgan and Morton(1957)<sup>31)</sup>, Ficz and Errera(1958)<sup>18)</sup> 等によつて解明されつつある。

更に, Heilbrunn et al. (1954, 1957)<sup>15)16)</sup>, Menkin (1956)<sup>28)</sup>, Barth (1957)<sup>2)</sup>, Wolfson (1959)<sup>39)</sup> 等は疲労筋, 魚類の卵巣, ウニの卵巣, 未受精卵, 精巣, 腸管等から分裂抑制物質を抽出した。又, Butros (1959)<sup>7)</sup> は DNA 重合度の異なる物質の抽出や精製を行い, それらが分裂の賦活作用, 無作用或は抑制作用のある事を報告した。

著者は cornin の抽出精製方法を検討し, その精製物について化学的性質, paper-chromatogram, paper-electrogram, spectrogram, dialysis 等を検した。更に, 生物学的作用の1つとして細胞分裂に及ぼす影響を調べ, 併せて牛の角膜の加水分解物, gelatin, 卵白 albumin 及び substance P と比較検討し, cornin が強力な antimitotic agent としての作用を有する事が判明したのでここに報告する。

## 実験材料及び方法

完全に同期的分裂を行い, 且つ正常な分裂過程を経るサンショウウニ (*Temnopleurus tereumaticus*) の卵細胞を用いた。実験は1962年, 7~8月, 岡山大学理学部附属臨海実験所で行つたものである。成熟卵は電気刺激及び M. 2 KCl で排卵させ, 正常海水で洗い実験に供した。受精膜除去の実験は, 絹布を用いて濾過したものである。受精率は常に99%以上のものを用いた。

Cornin は牛の角膜から抽出精製したもので, 抽出方法は図1に示す。

Cornin 及び他の試薬は正常海水溶液とし, その溶液に卵細胞の浮遊液を加え, 最終濃度が  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , ……とし通常受精前10分間処理の後, 加精。受精膜の隆起, 第1分裂及び第2分裂を時間と共に算定した。対照群は正常海水のみである。受精膜除去の実験は, 受精後5~15分の間に受精膜除去卵を作り, 受精後20分で試液に入れ同様に時間と共に算定した。対照は正常海水水中の受精膜除去卵である。実験室の温度は  $28\sim 32^{\circ}\text{C}$  であつた。

Cornin の生化学的性質として, 二次元の paper-

Fig. 1.

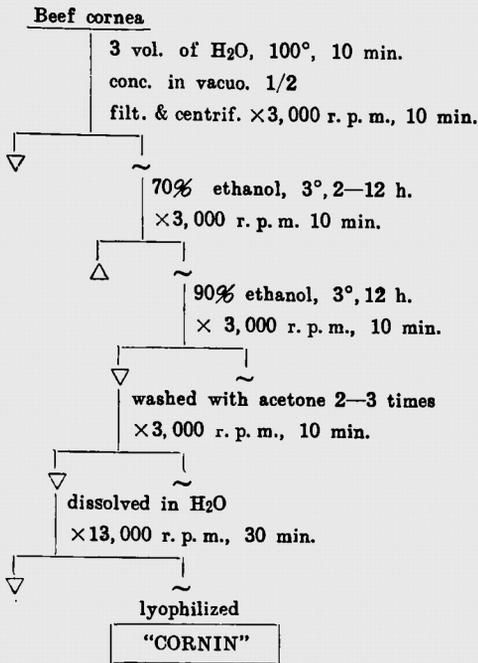


図 1. "cornin" の抽出精製法

chromatography, paper-electrophoresis 及び紫外部吸収を調べた。角膜の加水分解は 6 N-HCl 及び N-NaOH で行い、ダイヤイオン交換樹脂で脱塩する方法を用いて精製した。substance P は Euler (1936)<sup>12)</sup>, Pernow (1953)<sup>35)</sup> の方法に従って家兔小腸から抽出精製したものを用いた。

### 実験成績

Cornin の paper-chromatogram :

図 1 に示した方法で精製した cornin を一次元は n-butanol . acetic acid : distilled water = 4 : 1 : 5, 二次元は phenol : distilled water = 7 : 3 で, 37°C, 夫々 10 時間展開し ninhydrin で発色させると, 図 2 に示す様な chromatogram を得た。

Cornin の paper-electrogram :

Cornin を ionic strength 0.05, pH 8.6 の veronal buffer, 255V, 2mA~4mA, 3 時間室温で泳動したもので図 3 に示す electrogram を得た。

Cornin の spectrogram :

Cornin の水溶液を日立製 EPU-2 A 型の分光光度計で紫外部の spectrogram をとると図 4 に示す様な成績を得た。又, substance P の spectrogram を調べたところ図 4 に示す様に cornin とは全く異

Fig. 2.

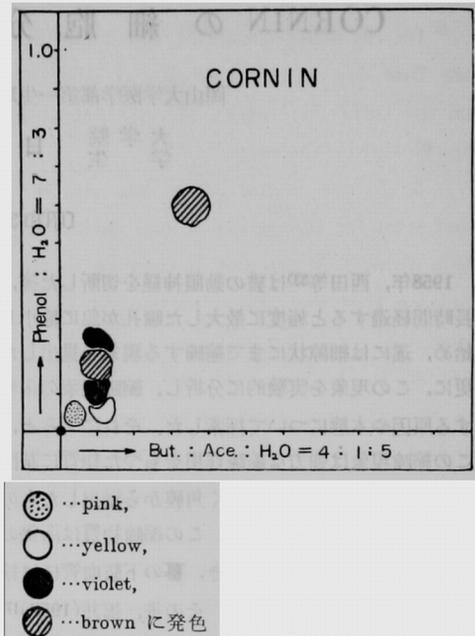


図 2. Cornin の二次元 paper-chromatogram

展開剤 : 一次元...butanol/acetic acid/water (4 : 1 : 5), 二次元... phenol/water (7 : 3), 37°C で 10 時間, 東洋濾紙 No. 50 を用いて展開, ninhydrin で発色

なつた吸収帯を示している。210~260m $\mu$  のあたりに吸収を持つている tyrosine 及び ATP 等とも, その spectrogram を比較検討してみたが, そのいずれとも異なっている。又, 角膜の塩酸加水分解物及びアルカリ加水分解物の spectrogram を図 5 に示したが, いずれも 260m $\mu$  の吸収が失われている。

Cornin 及び試葉の分裂阻害効果 :

Cornin の 10<sup>-3</sup>~10<sup>-8</sup> 濃度の溶液中での分裂阻害効果は, 図 6~10 に示した。この図に示す様に cornin の 10<sup>-5</sup> までの濃度に於ては, 第 1 分裂, 第 2 分裂共に著しく阻害されており, 特に第 2 分裂では殆んど完全に阻止されている。cornin の 10<sup>-6</sup> 溶液となると, 第 1 分裂には殆んど影響がないが, 第 2 分裂はかなり阻害されている。又, 10<sup>-8</sup> 溶液に於ても第 2 分裂阻止は僅かではあるが認められる。

受精後 20 分で cornin の 10<sup>-4</sup> 溶液に浸した場合の効果を図 11 に, 受精膜を除去し受精後 20 分で cornin の 10<sup>-4</sup> 溶液に浸した場合を図 12 に示した。前者の場合には対照と差がないのに反し, 後者の場合は第

Fig. 3.

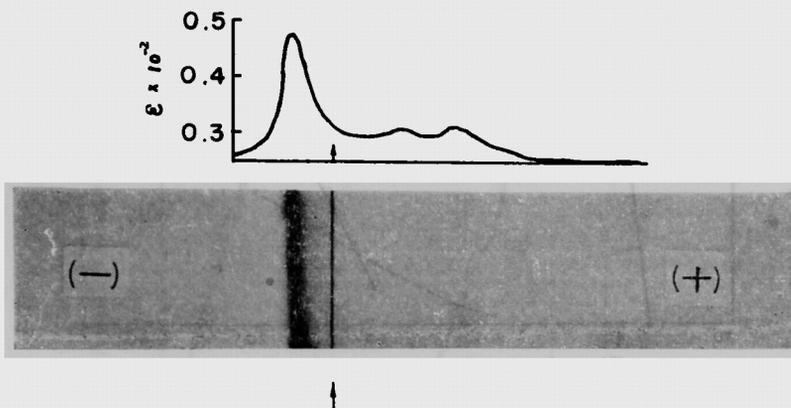


図3. Cornin の paper-electrogram  
 veronal buffer pH 8.6, ionic strength 0.05,  
 25°C で3時間泳動, Carl-Schleicher & Schüll-Dussel 紙を使用,  
 bromphenol blue 染色 (縮尺1/2)

Fig. 4.

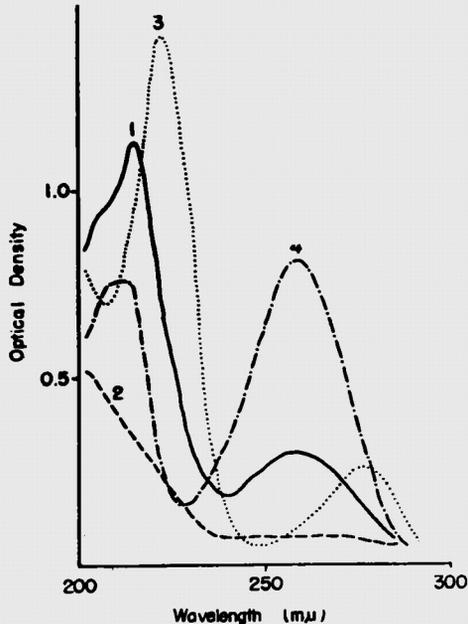


図 4. Cornin 及び 2, 3 の関連物質の absorption spectra

- 1. cornin, 2. substance P, 3. tyrosine,
- 4. adenosine triphosphate

Fig. 5.

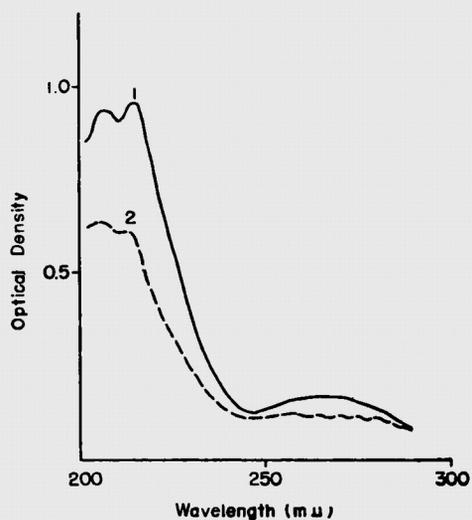


図 5. 牛角膜の酸及びアルカリ加水分解酸イオン交換樹脂で脱塩した全アミノ酸の absorption spectra

- 1. アルカリ, 2. 酸

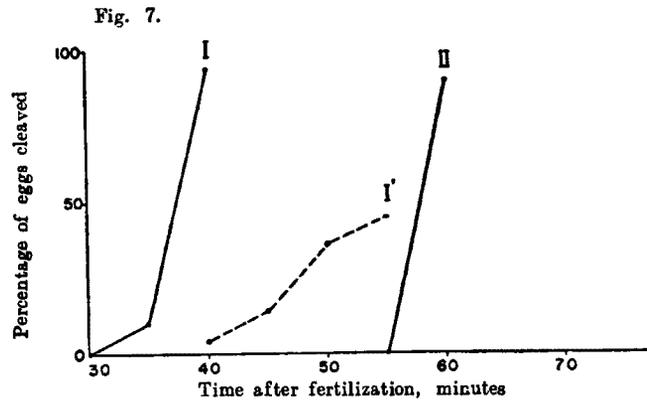
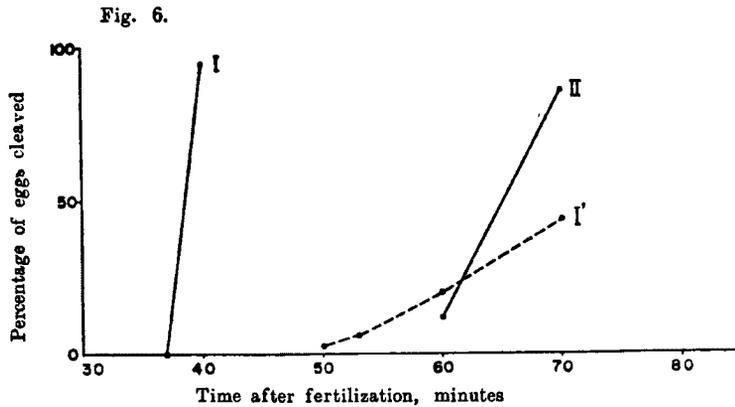


図6及び7. Corninの*Temnopleurus*卵に及ぼす分裂阻害効果。

I, IIは対照群の第1及び第2分裂の出現曲線, I'はcornin溶液中での第1分裂の出現曲線を示し, 図6及び7は夫々corninの $10^{-3}$ 及び $10^{-5}$ 溶液に相当する。共に第1分裂の阻害は著しく, 且つ第2分裂の出現を認めない。室温 $30^{\circ}\sim 31^{\circ}\text{C}$

1分裂, 第2分裂共に, 特に第2分裂が著しく阻害されている。

角膜のアルカリ加水分解物及び酸加水分解物の $10^{-3}\sim 10^{-5}$ 溶液で, 同様に受精前10分処理した後加精して, 分裂阻害効果を調べたのが図13~16である。比較的高濃度では共に分裂阻害効果が現われている。次に, corninと同様に熱に対して安定な蛋白であるgelatinと, 熱に不安定な卵白albuminを対照として分裂阻害効果を調べたのが図17であるが, 共に高濃度でも全く阻害効果を示さない。又, 熱に安定で, 他の生物学的作用がcorninと良く似ているsubstance Pの細胞分裂に対する作用を調べたのが図18~20である。 $10^{-3}$ では分裂阻止が現われ,  $10^{-4}$ では対照と差が無くなり, 更に低濃度となると却つて亢進効果が現われた。

なおcornin及びsubstance Pの $10^{-3}$ の溶液では受精膜の隆起が阻害されるが, 他はいずれの試薬の場合でも受精膜隆起の阻害は認められなかった。更にcorninの $10^{-5}$ 溶液までは処理卵を正常海水に戻して, 発生を続けさせた場合に, 発生過程の停止したものも多く, 中に正常発生を続けるものもあるが異常な遅れを示している。しかしpluteus型幼生までの飼育では奇形は認められない。substance P, 酸及びアルカリ加水分解物, gelatin, 卵白albuminの場合には, 対照と殆んど差がなく発生が進行していた。

又, spermのみを処理して受精させた場合には, いずれの場合にも分裂阻止や遅延は認められず飼育でも何ら変化がなかった。

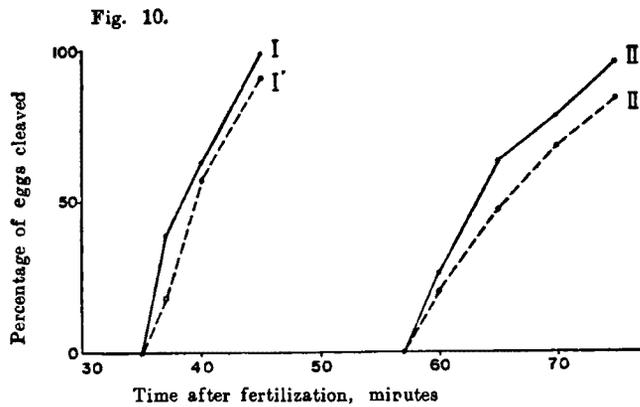
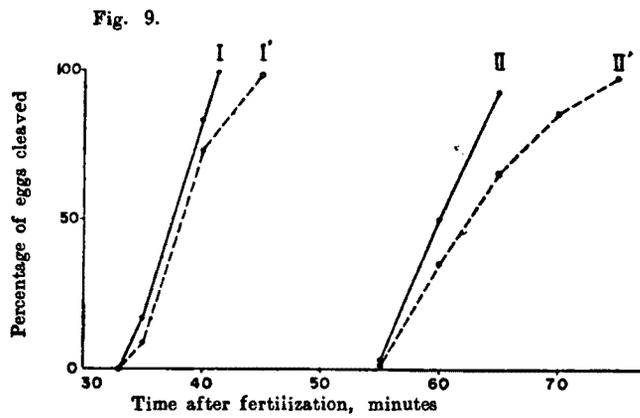
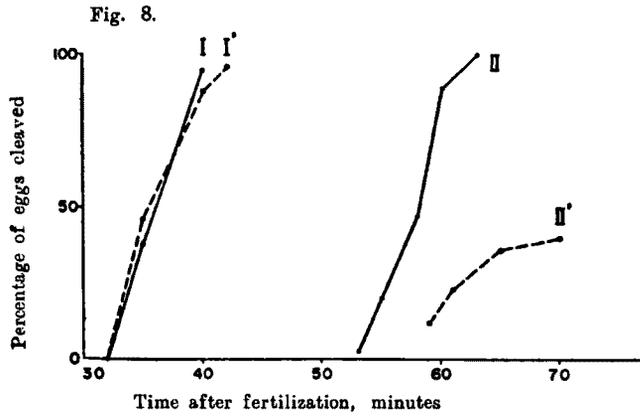


図8~10. Cornin の *Temnopleurus* 卵に及ぼす分裂阻害効果。  
 I, II 及び I', II' は夫々対照群及び実験群の第1, 第2分  
 裂の出現曲線を表し, 図8, 9, 10は各々 cornin の $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  
 $10^{-8}$  溶液に当る。共に第1分裂には殆んど影響を認めないが,  
 第2分裂では濃度に応じて阻害効果が認められる。室温  $28^{\circ}$   
 $\sim 31^{\circ}\text{C}$

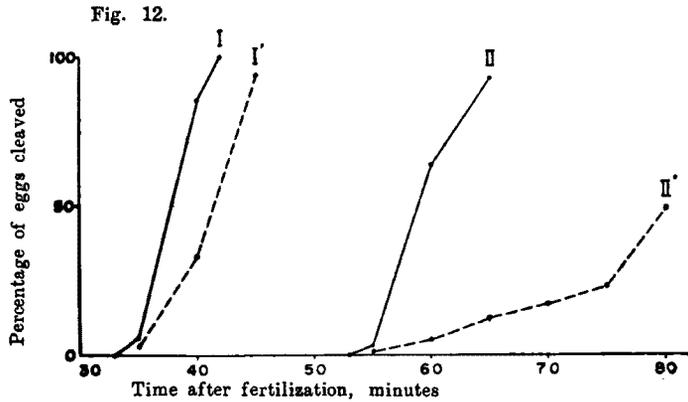
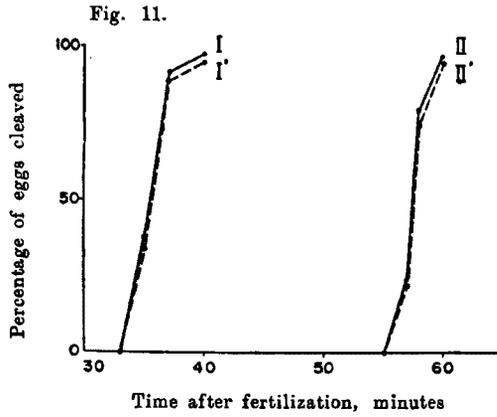


図11及び12. 受精膜の有無と cornin の分裂阻害効果.

受精後20分で cornin  $10^{-4}$  溶液に浸した場合で、受精膜を有するものを図11, 除去したものを図12に示す。共に I, II は対照群, I', II' は実験群の第1及び第2分裂出現曲線を表わす。有膜の場合は対照と差がないが、無膜では第1, 第2分裂共に阻害を認め、特に第2分裂では顕著である。室温 $29^{\circ}\text{C}$

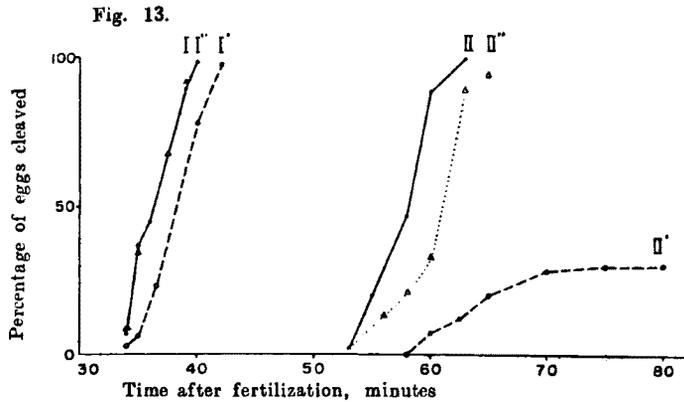


図13. 牛角膜アルカリ加水分解物の *Temnopleurus* 卵に及ぼす分裂阻害効果.

I, II は対照群の第1及び第2分裂の出現曲線, I', II' は $10^{-3}$ , I'', II'' は $10^{-4}$  溶液中での第1, 第2分裂の出現曲線を示す。 $10^{-3}$  の濃度では、特に第2分裂で著明な阻害が見られるが、 $10^{-4}$  では第1分裂に影響がなく、第2分裂で僅かに延延が認められる程度である。室温 $31^{\circ}\text{C}$

Fig. 14.

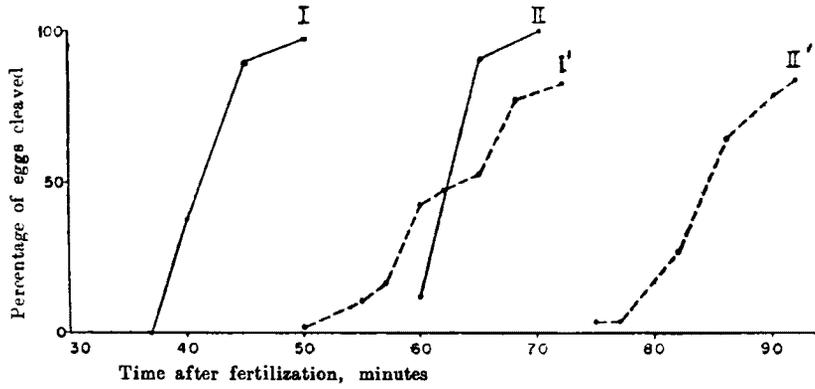


Fig. 15.

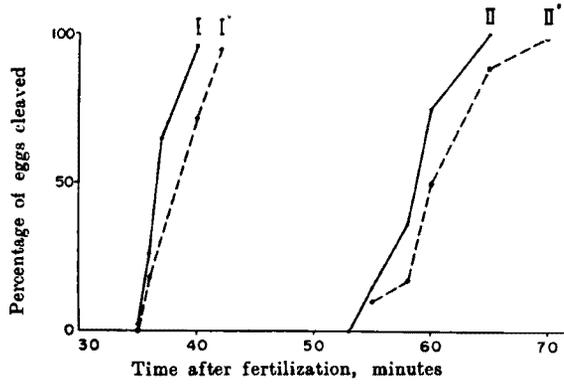


Fig. 16.

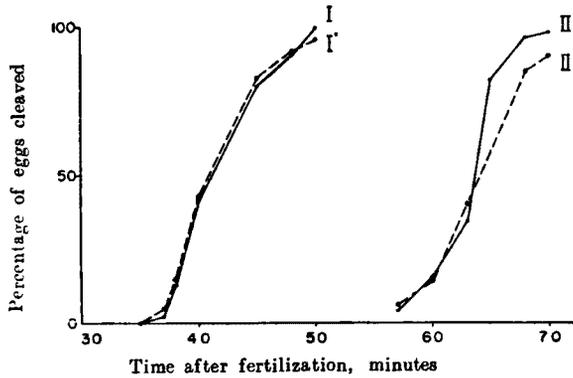


図14~16. 牛角膜酸加水分解物の *Temnopleurus* 卵に及ぼす分裂阻害効果.

I, IIは対照群, I', II'は実験群の第1及び第2分裂の出現曲線を示し, 図14, 15, 16は夫々 $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ 溶液の場合である。 $10^{-3}$ の濃度では第1, 第2分裂共に著しい遅延が認められるが,  $10^{-4}$ でごく軽微となり,  $10^{-5}$ では殆ど影響は見られない。室温 $28^{\circ}\sim 30^{\circ}\text{C}$

Fig. 17.

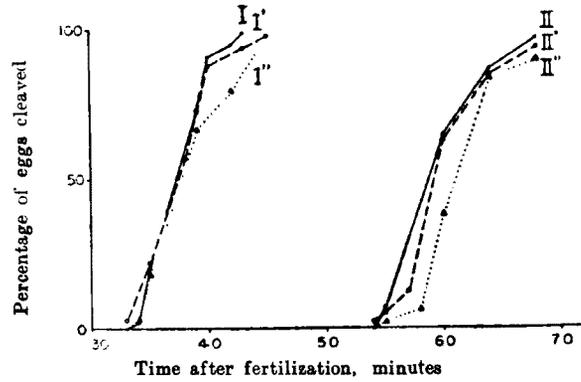


図17. Gelatin 及び卵白 albumin の *Temnopleurus* 卵に及ぼす分裂阻害効果. I, II は対照群, I', II' 及び I'', II'' は gelatin 及び卵白 albumin の 10<sup>-3</sup>溶液中での第1, 第2分裂の出現曲線を示す。共に分裂阻害効果を認めない。室温31°C

Fig. 18.

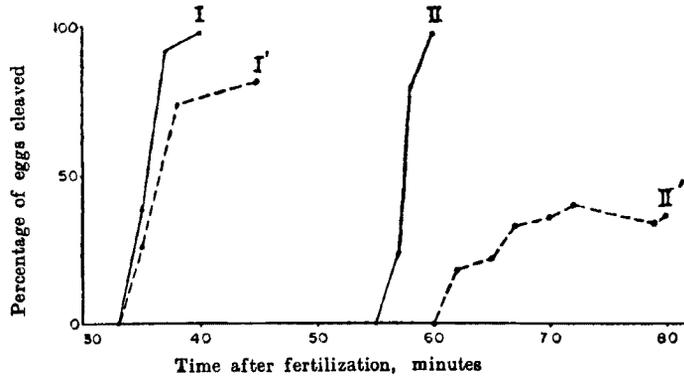
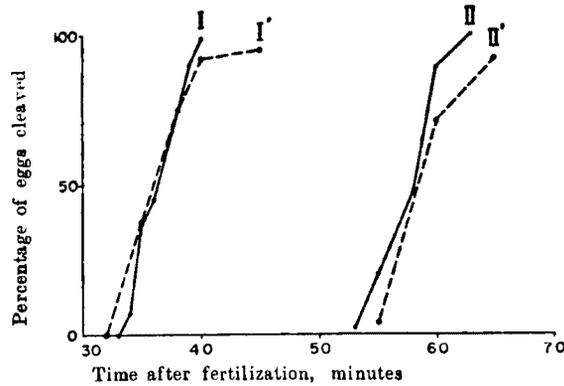


Fig. 19.



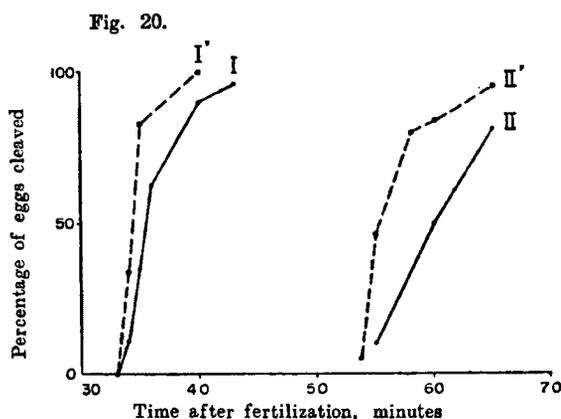


図18~20. Substance P の *Temnopleurus* 卵に及ぼす分裂阻害効果。

I, II は対照群, I', II' は実験群の第1及び第2分裂の出現曲線を示し, 図18, 19, 20は夫々 $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ 溶液に相当する。 $10^{-3}$ の濃度では分裂が著しく阻害されるが,  $10^{-4}$ では対照と殆んど差がなくなり,  $10^{-5}$ では却つて亢進効果が認められる。室温 $29^{\circ}\sim 30^{\circ}\text{C}$

#### 考 按

細胞分裂を阻止又は遅延させる原因として, 物理的要因には, Koller (1954)<sup>21)</sup> の綜説にもある様に Blum et al. (1954)<sup>6)</sup> の紫外線照射, Koller (1954)<sup>21)</sup> の X 線照射, Swanson et al. (1951)<sup>37)</sup> の赤外線照射或は Zeuthen et al. (1954)<sup>41)</sup> の熱処理, Marsland (1938, 1956)<sup>23)24)</sup>, 村上 (1960)<sup>32)</sup> 等の高水圧等がある。その主な物理化学的要因は, 原形質内の-SH 基の酸化, 蛋白の変性, 粘性の変化等から二次的に代謝阻害或は分裂装置の形成阻止となつている。

一方, 同じく細胞分裂を阻止又は遅延させる原因として, 化学的要因としては, 最近の Bass (1959)<sup>3)</sup> の綜説にもある如く, colchicine とその誘導体, alkylating agents, antifolic acid 及び amino acids, hormones, miscellaneous compounds 及び gibberellin 等がある。その機構は物理的要因の場合と同様に, 未だ不明の点が多く, -SH 基, carboxyl 基又は phosphate groups の機能上の影響から水素結合の変化, 原形質内の  $\text{Ca}^{++}$  濃度の変化, 原形質の gelation 或は solation, 或は物質透過による代謝吸収の変化等が起り, それらが分裂の不調を発現させるものと考えられている。

さて細胞分裂に及ぼす cornin の影響は図6及び図7に示した如く,  $10^{-5}$  までの濃度では第1分裂の発現を著しく遅延させ, 第2分裂は完全に阻止せしめて居る。 $10^{-6}$ の濃度においては, 第1分裂の遅

延効果がなくなり, 第2分裂に遅延効果が現われて来るが, 第2分裂への遅延効果は  $10^{-8}$  でも残存している。この様な稀薄溶液でも分裂阻止又は遅延効果が存在する事は, 後でも論ずるが, 未だその例を見ない程のものである。受精後20分して $10^{-4}$  cornin 溶液に浸した場合, 対照と全く差がなく(図11), 受精膜を除去して浸した場合には遅延効果が現われる(図12)ことから考えて, この物質は原形質膜の透過性が悪く, とりわけ受精膜の存在する場合には, 殆んど透過し得ないものと考えられる。

又, 角膜のアルカリ加水分解物及び酸加水分解物は, 高濃度の場合には第1分裂及び第2分裂への遅延効果が現われているが,  $10^{-5}$  となると対照と差がなくなる事から cornin の分裂阻止或は遅延効果というものは, 単なるアミノ酸の作用ではなく biological active peptides としての cornin の特異的な作用と見なす事が出来る。更に熱に安定な蛋白である gelatin 及び熱に不安定な蛋白である卵白 albumin が, 高濃度においても全く分裂阻止作用のない事は, 上記の考え方を強く支持していると思われる。

Cornin の第1分裂及び第2分裂への作用効果に差が生じる事は, Cornman (1954)<sup>8)</sup> の報告した urethane で蛋白変性を生ぜしめての作用, McDonald and Kaufman (1957)<sup>27)</sup> や Davidson (1958)<sup>9)</sup> 等の報告した ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) の chelating action からの作用, Mazia (1958)<sup>25)</sup>, Mazia and Zimmerman (1958)<sup>26)</sup>, Decroly, Six

and Cape (1961)<sup>10</sup>) 等の報告した mercaptoethanol での -SH blocking agents としての作用、或は Barnett (1953)<sup>11</sup>) の報告した cyanide, azide, DNP, malonate 等の作用とは異なるものである。

一方、細胞分裂に際しての蛋白合成或は核酸の合成に関して、アミノ酸或は核酸の前駆体のとり込みに関し、最近多くの報告に接する事が出来る。これらを要約すると、Berg (1953)<sup>4</sup>), Morgan and Morton (1957)<sup>31</sup>), Ficq and Errera (1958)<sup>13</sup>) 等は培養細胞分裂へのアミノ酸の影響として、培養に最適な必須アミノ酸の総濃度は 100 mg per cent であり、成長や増殖の阻害は DL-methionine, glutamic acid, aspartic acid,  $\alpha$ -alanine, proline 及び hydroxyproline で認められたと述べている。

Cornin での分裂阻害効果は metabolic に上記の如きアミノ酸を遊離して発現したものかも知れない。

又、Simmel and Karnofsky (1961)<sup>36</sup>), Levi-Montalcini and Angeletti (1961)<sup>22</sup>) 等によると、tritiated thymidine ( $H^3TDR$ ) の未受精卵や精子へのとり込みは核の localization とは一致しないが、受精後は 15~20分以内に pronuclei に入っていることから、受精後の 15~20分の間に、DNA 合成や大部分の蛋白合成はなされるものと考えられている。

更に、Jervis and Smyth (1959)<sup>18</sup>), Paine, Newan and Taylor (1959)<sup>34</sup>), Edelman (1961)<sup>11</sup>) 等が発見した L-methionine は L-histidine の transport を抑制する。しかし L-histidine は L-methionine の absorption に少ししか影響しないと云う様な現象がある。cornin 処理の場合においても核蛋白の合成や、分裂装置の形成に際して elementary substance と competition を起した結果、分裂阻止や遅延効果が現われたと云うことも考えられる。

次に、注目に値するものは、Heilbrunn, Chaet, Dunn and Wilson (1954)<sup>15</sup>), Menkin (1956)<sup>28</sup>), Barth (1957)<sup>2</sup>), Heilbrunn, Wilson, Tosteson, Davidson and Rutman (1957)<sup>16</sup>), Butros (1959)<sup>7</sup>), Wolfson (1959)<sup>39</sup>) 等が究明しつつあるウニの卵細胞や、牛、犬、魚類、甲殻類等の卵巣から抽出される antimitotic substance, retarding cleavage factor である。これらは、蒸留水や海水で抽出され、水に可溶で熱に安定、chloroform に不溶で、牛の卵巣からの抽出物は 45~60% alcoholic fraction に入っており、0.0125% 溶液でウニ (*Arbacia punctulata*),

ユムシ (*Chaetopterus pergameniacus*) の卵の分裂を 95% 阻止している (1957)<sup>16</sup>), Heilbrunn et al. (1954)<sup>15</sup>) の報告では、この物質は heparin like で、periodate 処理によつて antimitotic activity が完全に失われる。dialysis の観察では heparin と同様に透析可能であるが、single dialysis では active substance は完全には透析されていない。paper-chromatogram では核酸やアミノ酸反応は陰性である。紫外部の吸収の極大も heparin に類似していると述べ、200倍稀釈では完全に分裂を阻止し、400倍では対照と差がなくなる。Wolfson (1959)<sup>39</sup>) は、ウニの卵、卵巣、精巣、腸管から抽出した retarding factor は dialysable で、charcoal に吸着される。しかし、Menkin (1956)<sup>28</sup>) の報告によれば、同じくウニの卵巣からの抽出物で dialysable なものは分裂の accelerator になり indiffusible fraction が retarding effect を持つていると述べている。更に accelerator factor は 265~270 m $\mu$  に吸収を持ち Butros (1959)<sup>7</sup>) も報告している様な核酸の構成成分が分裂の stimulator になると云うものとよく一致している。

さて、cornin の生化学的性質から考察して、Heilbrunn 等の抽出物は熱に安定であり、260 m $\mu$  附近の吸収の極大、Visking 製の cellophane tube で indiffusible な物質も分裂の inhibitor であること等は cornin と良く似ているが、cornin は ninhydrin 反応陽性で且つ peptides を有する (1954, 1961)<sup>14</sup>)<sup>40</sup>) 点で決定的な差をもっている。

そこで cornin と同様な biological active peptides である substance P についての実験では、図 18~20 に見られる様に 10<sup>-3</sup> 溶液では cornin と同様な遅延効果があるが、10<sup>-4</sup> となると対照と差がなくなり、10<sup>-5</sup> 溶液では却つて分裂促進の効果が現われて来ている。

角膜の如く分化の進んだ、且つ分裂能力の殆んどない組織 (角膜実質) には、cornin の如き antimitotic substance が含まれていると云うことは、この物質が何か生理的に意味を持つていないのかと云う考えを暗示する。同じ様に細胞分裂能力の非常に少い脳から抽出され、縮瞳、滑平筋運動の亢進、血圧下降作用等生理的作用の良く似た substance P が分裂能に及ぼす効果で逆の現象が現われる事は、Menkin の報告にもある様にこれらの active peptides が透析性の差によつて、全く逆の 2 つの作用を持つたものに分ち得られるものかどうか深い関心がよせ

られる。最近当教室の得本（未発表）が生体各組織に於ける cornin の分布状態を調べ、脳には cornin 様物質が大量に含まれていることを確認していることは、cornin の分裂阻止作用と併せて興味のあることである。更に、cornin での分裂阻止機構の解明も今後の研究にまたねばならない。

### 結 論

牛の角膜から抽出される biological active peptides "Cornin" の生化学的性質及び細胞分裂に及ぼす影響を調べ、下記の如き結果を得た。

1) Cornin は 215 m $\mu$  及び 255~265 m $\mu$  に吸収の極大を有し、240m $\mu$  に吸収の極小を有す。

2) Cornin は 10<sup>-5</sup> の濃度までは強力な分裂阻止物質としての作用がある。その作用は 10<sup>-8</sup> の濃度

でも分裂の遅延効果を持つている。

3) Cornin は受精膜を通り難い。

4) 角膜の酸及びアルカリ加水分解物では、分裂阻害効果が 10<sup>-5</sup> の濃度ではすでになくなる。

5) Gelatin 及び卵白 albumin には分裂阻害効果がない。

6) Substance P は 10<sup>-3</sup> の濃度では分裂遅延効果を有するが、10<sup>-4</sup> ではなくなり、10<sup>-6</sup> では却つて分裂促進効果を有す。

7) Cornin は、Heilbrunn 等の抽出した antimitotic substance 等とは化学的性質を異にする。

稿を終るに当り、終始懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師西田教授に深甚の謝意を捧げると共に、多大の御援助を頂いた安田助教授並びに村上・三木両講師に深謝致します。

### References

- 1) Barnett, R. C.: Biol. Bull. 104, 263, 1953.
- 2) Barth, L. G.: Annu. Rev. Physiol. 19, 41, 1957.
- 3) Bass, A. D.: Annu. Rev. Physiol. 21, 49, 1959.
- 4) Berg, C. P.: Physiol. Rev. 33, 145, 1953.
- 5) Blum, H. F. and Price, J. P.: J. gen. Physiol. 33, 285, 1950.
- 6) Blum, H. F., Kauzmann, E. F., and Chapman, G. B.: J. gen. Physiol. 37, 325, 1954.
- 7) Butros, J. M.: Exp. Cell Res. 18, 318, 1959.
- 8) Cornman, I.: Intern. Rev. Cytol. 3, 113, 1954.
- 9) Davidson, D.: Exp. Cell Res. 14, 329, 1958.
- 10) Decroly, M., Six, N. and Cape, M.: Arch. int. Physiol. Biochim. 69, 380, 1961.
- 11) Edelman, I. S.: Annu. Rev. Physiol. 23, 37, 1961.
- 12) Euler, U. S.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 181, 181, 1936.
- 13) Ficc, A. and Errera, M.: Exp. Cell Res. 14, 182, 1958.
- 14) Hardwicke, J.: Biochem. J. 57, 166, 1954.
- 15) Heilbrunn, L. V., Chaet, A. B., Dunn, A. and Wilson, W. L.: Biol. Bull. 106, 158, 1954.
- 16) Heilbrunn, L. V., Wilson, W. L., Tosteson, T. R., Davidson, E. and Rutman, R. J.: Biol. Bull. 113, 129, 1957.
- 17) Hukui, M.: J. Yonago Med. Ass. 9, 673, 1958.
- 18) Jervis, E. L. and Smyth, D. H.: J. Physiol. 145, 57, 1959.
- 19) Jervis, E. L. and Smyth, D. H.: J. Physiol. 149, 433, 1959.
- 20) Kado, N.: J. Yonago Med. Ass. 12, 71, 1961.
- 21) Koller, P. C.: Prog. Biophysics biophysic. Chem. 4, 195, 1954.
- 22) Levi-Montalcini, R. and Angeletti, P. U.: Annu. Rev. Physiol. 10, 59, 1961.
- 23) Marsland D. A.: J. cell. comp. Physiol. 12, 57, 1938.
- 24) Marsland D. A.: Inter. Rev. Cytol. 5, 199, 1956.
- 25) Mazia, D.: Exp. Cell Res. 14, 486, 1958.
- 26) Mazia, D. and Zimmerman, A. M.: Exp. Cell Res. 15, 138, 1958.
- 27) McDonald, M. R. and Kaufmann, B. P.: Exp. Cell Res. 12, 415, 1957.
- 28) Menkin, V.: Exp. Cell Res. 11, 270, 1956.
- 29) Miyahara, M.: J. Yonago Med. Ass. 10, 13, 1959.
- 30) Moriya, H.: Protein, Nucleic Acid, Enzyme,

- 7, 382, 1962.
- 31) Morgan J. F. and Morton, H. J.: J. biophysic. biochem. Cytol. 3, 141, 1957.
- 32) Murakami, T. H.: Symposia Cell Chem. 10, 233, 1960.
- 33) Nisida, I., Nakayama, S., Hukui, M., Miyosi, Z. and Hamamura, H.: J. Yonago Med. Ass. 9, 545, 1958.
- 34) Paine, C. M., Newman, H. J. and Taylor, M. W.: Amer. J. Physiol. 197, 9, 1959.
- 35) Pernow, B.: Acta Physiol. Scand. 29, Suppl. 105, 1, 1953.
- 36) Simmel, E. V. and Karnofsky, D. A.: J. biophysic. biochem. Cytol. 10, 59, 1961.
- 37) Swanson, C. P. and Yost, H. T.: Proc. nat. Acad. Sci. 37, 796, 1951.
- 38) Waymouth, C.: Intern. Rev. Cytol. 3, 1, 1954.
- 39) Wolfson N.: Exp. Cell Res. 18, 504, 1959.
- 40) Zetler, G.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 242, 330, 1961.
- 41) Zeuthen, E. and Scherbaum, O.: Recent Development in Cell Physiology, (Ed. by J. A. Kiching) pp. 141, 1954.

### Effect of Cornin on the Cell Division\*

By

Mitio HINO

1st. Dept. of physiol., Okayama Univ. Med. School  
(Director · Prof. Isamu Nisida, M. D.)

Observations were carried out on the biochemical properties of "cornin", as a biological active peptides, extracted from the bovine cornea and its effects on the cell division was studied, and the following results were obtained.

1. Cornin has the maximum absorption band at 210—215  $m\mu$  and at 255—265  $m\mu$  and the minimum absorbancy at 240  $m\mu$ .

2. Cornin in the concentration up to  $10^{-5}$  shows a marked inhibitory effect on the cell division, and even at the concentration of  $10^{-8}$  it exhibits an effect to retard the cell division.

3. Cornin hardly passes through the fertilization membrane.

4. Both acidic and alkaline hydrolysates of the cornea lose their antimitotic effect already at the concentration of  $10^{-5}$ .

5. Gelatin and egg albumin, on the other hand, have been found to show no retardation effect on the cell division.

6. The substance P at the concentration of  $10^{-3}$  shows the retardation effect on the cell division, but at the concentration of  $10^{-4}$  it loses such an effect, while on the contrary, at the concentration of  $10^{-5}$  it rather accelerates the cell division.

7. Cornin possesses biochemical properties different from those of the antimitotic substances extracted by Heilbrunn *et al.*

\*Work supported by grant from the Abbott laboratories, scientific divisions.