

Occurrence of Multiple Forms of Bull and Ram Acrosin during Proenzyme Activation and Inhibition of Activation by *p*-Nitrophenyl *p*'-guanidinobenzoate

Gabriele SHAMS BORHAN, Wolf-Dieter SCHLEUNING, Harald TSCHESCHE and Hans FRITZ

Institut für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Universität München and
Institut für Organische Chemie der Technischen Universität München

(Received 1 March 1976)

Summary: Proacrosin was extracted from freshly ejaculated bull and ram spermatozoa with acidic buffer solution pH 3.0, and was partially purified by gel filtration to remove acrosin inhibitors. The occurrence of multiple active forms during proacrosin activation at pH 7.8 was monitored by active enzyme staining of samples after poly-

acrylamide gel electrophoresis at pH 3.8. For comparison, the protein pattern of such activation samples was also determined after sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Proacrosin activation was completely prevented in the presence of 10^{-4} M *p*-nitrophenyl *p*'-guanidinobenzoate.

Nachweis multipler Formen des Akrosins von Bulle und Schaf während der Proenzymaktivierung und Verhinderung dieser Aktivierung durch p-Nitrophenyl-p'-guanidinobenzoat

Zusammenfassung: Proakrosin wurde aus frisch ejakulierten Bullen- und Schafspemien durch saure Extraktion bei pH 3.0 gewonnen und durch anschließende Gelfiltration (zur Abtrennung von Inhibitoren) teilweise gereinigt. Das Auftreten von mehreren aktiven Formen während der Aktivierung des Proenzym bei pH 7.8 wurde durch Anfärbung der enzymatisch aktiven Banden nach

Polyacrylamidgel-Elektrophorese bei pH 3.8 verfolgt. Zum Vergleich wurde die Proteinverteilung der Aktivierungsproben im Gel nach Natriumdodecylsulfatelektrophorese bestimmt. Die Proakrosinaktivierung wurde in Gegenwart von 10^{-4} M *p*-Nitrophenyl-*p*'-guanidinobenzoat vollständig verhindert.

Key words: acrosin, proacrosin, spermatozoa, autoactivation, inhibition.

Enzymes:

Acrosin (EC 3.4.21.10);

alcohol dehydrogenase from yeast, alcohol:NAD⁺ oxidoreductase (EC 1.1.1.1).

Abbreviations: BzArgOEt: *N*^α-benzoyl-L-arginine ethyl ester; BzArgNH₂Naph: *N*^α-benzoyl-DL-arginine-β-naphthylamide-HCl; BzArgNH₂Np: *N*^α-benzoyl-L-arginine *p*-nitroanilide; (NH₂)₂CNBzONp: *p*-nitrophenyl *p*'-guanidinobenzoate.