

運動および死滅ウシ精子の 5400G 定常磁場配向に及ぼす 膜表面荷電物質シアル酸の影響

Effects of Cell Surface Sialic Acid on the Orientation of Motile and Killed Cattle Sperm
in a 5400-G Static Magnetic Field

菅 大助・新城明久・稲嶺一樹・仲田 正・真喜志 修*

琉球大学農学部生物生産学科, 沖縄県西原町千原 1 (☎903-0129)

*沖縄県畜産試験場, 沖縄県今帰仁村諸志 2009-5 (☎905-0426)

D. Suga, A. Shinjo, K. Inamine, T. Nakada, and O. Makishi*

Department of Bioproduction, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus,

1 Senbaru, Nishihara-cho, Okinawa 903-0129

*Okinawa Prefectural Livestock Experimental Station, 2009-5 Shoshi, Nakijin-son, Okinawa 905-0426

The present paper describes the effect of cell surface sialic acid on the orientation of motile and killed sperm of cattle in a 5400-G magnetic field. Cattle sperm collected from six bulls was placed in the medium. The semen suspensions were divided into motile, freeze-killed, and naturally dead sperm samples. An aliquot of the sperm samples were incubated with an added 1.0 mg/ml neuraminidase at 30°C for 1 hour. Neuraminidase-treated and non-treated samples were exposed continuously for 24 hours to a magnetic field of 5400 G at 38°C. Neuraminidase treatment enhanced the orientation of the sperm. Naturally dead sperm treated with neuraminidase and exposed to the magnetic field had the highest percentage of orientation. These findings suggest that a negatively charged cell surface inhibits sperm from orientating. However, freeze-killed sperm had a lower percentage of orientation than naturally dead and motile sperm.

Key words: magnetic field, orientation of cattle sperm, sialic acid

1. はじめに

近年、有機物質のフィブリン、ゼラチン¹⁾や細胞の赤血球²⁾などがそれらの磁気異方性によって定常磁場による配向現象が報告されている。赤血球はグルタルアルデヒドで固定した場合に磁場の方向と垂直に配向し、固定しない場合は平行に配向する。この原因として、固定した場合は膜に結合しているメトヘグロビンの常磁性磁気異方性、非固定の場合は膜の脂質二重層や膜貫通タンパク質が関与しているものと考えられている。

精子の走性として、走流性^{3), 4)}、走地性⁵⁾、および走化性⁶⁾が知られている。また、走電性について、精子は電気的に負の荷電を帯び、正極の方向に泳動する⁷⁻⁸⁾。

精子の磁場配向は、ヒト精子⁹⁾とウシ精子¹⁰⁾で磁場の方向に対して垂直に配向する現象が報告され、ヒト精子の場合はわずか 550 G で約 70% の精子が垂直に配向し、ウシ精子の場合は 1000 G ですでに影響を受けており 10000 G ではほぼ 100% の精子が配向する。この原因については、荷電体である精子の運動との関連⁹⁾や DNA の関与¹⁰⁾が推察されているが明らかでない。また、精子構成成分中の磁性物質の存在は不明である。

そこで本実験では細胞膜表面の荷電物質である糖タンパク質と結合しているシアル酸¹¹⁾に着目し、シアリダーゼで処理した精子¹²⁾の配向率を調べることによって膜荷電と磁場配向との関連について検討した。

また、ヒト精子⁹⁾ではあらかじめ運動をしていない精子は配向をしないと報告されている。ウシ精子¹⁰⁾では運動精子を回収し、低温下で運動を停止した場合とグルタルアルデヒドによって固定した場合についてのみ検討されている。本実験では複数個体の精子について、シアル酸の影響を調べると同時に磁場による精子の垂直配向現象が射出後の精子の生存に依存するものであるのかを明らかにするため、凍結融解によって機械的に死滅した精子と自然に死滅した精子の定常磁場配向の有無も調べた。

2. 試料および実験

2.1 試料の調整

試料は、黒毛和種の種雄牛から 1 回取りで採取した原精液を用い、6 頭の種雄牛についてそれぞれ 2 回反復した。各種雄牛の原精液はそれぞれ希釈液 (10.0 mM HEPES, 10.0 mM NaOH, 30 mM NaCl, 0.25 M スクロース, pH 7.1) で精子濃度を 10^7 cell/ml に希釈し、運動精子サンプルとした。また、凍結により死滅した精子 (以下、凍結死滅精子) と自然に死滅した精子 (以下、自然死滅精子) のサンプルを調整した。

凍結死滅精子は、運動精子サンプルの一部を凍結バイアルチューブに入れ、液体窒素中に直接浸漬して凍結保存し、流水中で融解を行う操作を 3 回繰り返した。自然死滅精子は、凍結処理をせずに 38°C のインキュベータ内で 5 日間以上放置した。

これらの精子サンプルを非酵素処理と酵素処理を行うサンプルとして試験管に分注し、30°C 恒温水槽中で 1 時間培養した。シアル酸の酵素処理は Kaneko らの方法¹²⁾に準じ、シアリダーゼ (Neuraminidase, Type V, シグマ社製) を 1 mg/ml 添加した。

培養後、これらのサンプルは、精液滴下部位を切り取ったパラフィルム (厚さ、0.15 mm ± 1%) を加熱によって張り付けたスライドガラス上に 50 μ l 滴下して気泡が混入しないようにカ

カバーガラスで覆い、余分な精液をキムワイプで軽く拭き取った後、市販のマニキュアで精液の蒸発とサンプルの流れを防ぐために封した（以下、チャンバと省略する、Fig. 1）。運動を停止している精子は、サンプル封入時にその構造上、サンプル液が流れる方向に対して鞭毛部を向けた状態が多く観察されたため、精子の向きをランダムにするため、カバーガラスで覆った後にカバーガラスを動かすことによって精子の方向のランダム化を確認して封した。

サンプルの封入後、運動精子についてはコンピュータ精子運動自動解析システム CellSoft 3000 (CRYO Resources 社製) で曝磁開始直前の精子運動率と運動速度を測定した。また、凍結死滅精子と自然死滅精子は、実験に供するチャンバ中の精子の運動停止状態を鏡検すると同時に、チューブ中の残りの精液を 2% エオシン液を用いた染色生死鑑別によって死滅していることを確認して実験に供した。

非酵素処理のサンプルを封入したチャンバの一つを非曝磁としてそれを対照区とし、他方を曝磁して曝磁区、酵素処理したサンプルを封入したチャンバを曝磁して酵素処理曝磁区とした。

2.2 曝磁方法

曝磁方法は、38℃ のインキュベータ内で Fig. 1 のようにネオジウム磁石 (NEOMAX, 住友特殊金属(株)社製) の N 極と S 極の間に保定木を挟んで固定した曝磁ステージを 2 組作製した。それらのステージ上に前述によって調整したチャンバを置き、24 時間経時的に曝磁した。磁束密度を TM-201 ガウスメータ (鐘通工業(株)社製) で測定した結果、チャンバ中央部に位置する磁束密度は 5400 G、チャンバ中央部とチャンバ両側端の磁場勾配は 53.3 G/mm であった。なお、対照区のチャンバは 38℃ に設定した別のインキュベータ内に配置した。

曝磁終了後、チャンバを接眼レンズにアングルマイクロメータを装置した顕微鏡のステージ上に移した。精子の配向方向の区別は、曝磁時に磁場の N 極から S 極に至る方向 (Y 軸) に対して、精子頭部を上とした長軸 (X 軸) が、 $+45^\circ < \text{長軸} < +135^\circ$ の場合を上方向の垂直配向精子、 $+225^\circ < \text{長軸} < +315^\circ$ を下方向の垂直配向精子、 $+135^\circ \leq \text{長軸} \leq +225^\circ$ を左方向の水平配向精子、 $+315^\circ \leq \text{長軸} \leq +360^\circ$ および $0^\circ \leq \text{長軸} \leq +45^\circ$ を右方向の水平配向精子として鏡検した。また、同時に、これら上下左右方向の精子について、精子頭部の扁平面が磁場の方向 (Y 軸) に対して垂直に向いている精子と水平に向いている精

子を区別して、Fig. 2 に示すように、上方向頭部垂直精子 (Up-Hperp)、上方向頭部水平精子 (Up-Hpara)、下方向頭部垂直精子 (Dow-Hperp)、下方向頭部水平精子 (Dow-Hpara)、左方向頭部垂直精子 (Lft-Hperp)、左方向頭部水平精子 (Lft-Hpara)、右方向頭部垂直精子 (Rit-Hperp)、右方向頭部水平精子 (Rit-Hpara) の 8 つのカテゴリの精子に分類し、1 チャンバにつき総計 1000 個以上の精子を測定した。

なお、位相差顕微鏡における鏡検時の視野と実際の方向は上下と左右がそれぞれ逆の関係にあるため、データ分析時に精子が実際に向いている方向と同一にした。

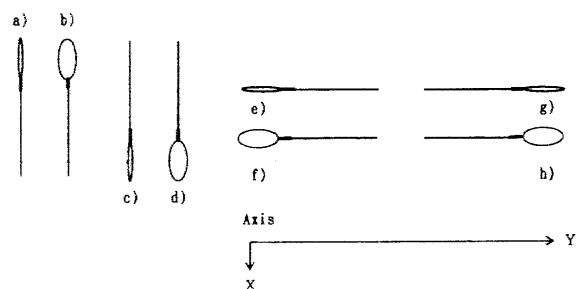


Fig. 2 Classification of sperm. a) Upward, with sperm head perpendicular (Up-Hperp). b) Upward, with sperm head parallel (Up-Hpara). c) Downward, with sperm head perpendicular (Dow-Hperp). d) Downward, with sperm head parallel (Dow-Hpara). e) Leftward, with sperm head perpendicular (Lft-Hperp). f) Leftward, with sperm head parallel (Lft-Hpara). g) Rightward, with sperm head perpendicular (Rit-Hperp). h) Rightward, with sperm head parallel (Rit-Hpara).

2.3 統計処理

統計処理は統計パッケージ SAS¹³⁾ を用いて 8 つのカテゴリの精子データ (Table 1) を垂直方向と水平方向の 2 つのカテゴリにまとめた場合について検定を行った (Table 2, 3)。

各実験区について精子数をプールすると $N=10000$ 以上になり、差が小さくても有意と判定されるため、実験区ごとに反復回数で除した加重平均値¹⁴⁾で垂直配向率を求めた。

垂直配向率と水平配向率の分離比の検定は χ^2 検定によって行った。CATMOD プロシジャの線形比較によって運動精子、凍結死滅精子、および自然死滅精子の 3 区の精子の状態について、対照区、曝磁区、酵素処理曝磁区の実験区間を比較し、また、各実験区について精子の状態間を比較した (Table 2)。個体による磁場感受性の差異を調べるため、各個体についても同様に垂直配向率と水平配向率の分離比の検定、実験区間の比較、および精子の状態間の比較を行った (Table 3)。

運動精子における曝磁開始前の運動性と曝磁後の垂直配向率との間の相関関係を調べるため、曝磁区と酵素処理曝磁区について、運動率と垂直配向率、運動速度と垂直配向率の相関係数を求めた (Table 4)。

3. 実験結果

3.1 曝磁 24 時間後の精子の向きと頭部の方向

曝磁 24 時間後の 8 つのカテゴリの精子の方向および頭部の

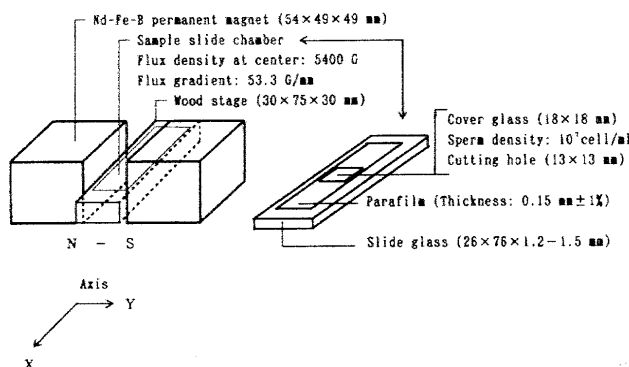


Fig. 1 Method of exposing cattle sperm to a 5400-G static magnetic field.

Table 1 Oriented percentages (%) of motile and killed cattle sperm treated with sialidase and exposed to a magnetic field of 5400 G for 24 hours

Condition of sperm		Orientation								Total number of sperm
		Perpendicular				Parallel				
		Up-Hperp	Up-Hpara	Down-Hperp	Down-Hpara	Lft-Hperp	Lft-Hpara	Rit-Hperp	Rit-Hpara	
Motile sperm										
Non-exposed		4.5	18.8	5.0	19.8	5.0	21.1	5.1	20.6	12564
Exposed	Non-treated	22.0	14.2	21.6	15.1	5.3	8.5	4.5	8.8	12662
	Treated ¹⁾	14.6	27.2	16.3	17.7	2.8	9.0	2.4	10.2	12786
Freeze-killed sperm										
Non-exposed		3.2	22.3	3.6	21.3	3.1	21.2	3.0	22.4	12843
Exposed	Non-treated	13.1	21.6	11.1	17.4	4.5	13.2	3.9	15.1	13101
	Treated	15.5	26.6	10.1	17.2	2.6	11.2	2.7	14.1	12733
Naturally dead sperm										
Non-exposed		3.2	17.9	4.2	24.4	4.2	22.2	3.5	20.3	12237
Exposed	Non-treated	14.7	20.8	14.7	20.4	4.2	10.6	3.7	11.0	13083
	Treated	17.3	20.2	18.3	20.0	3.7	8.4	3.4	8.6	13209

6 bulls × 2 replications. 1000 or more sperm per replication.

The total percentage in each row is not necessarily equal to 100, because of rounding to the first decimal place.

¹⁾Treated, treated with sialidase, and exposed to a magnetic field.

向きについて Table 1 に示す。

運動精子、凍結死滅精子、自然死滅精子のいずれの状態の精子についても磁場による上下の方向、すなわち垂直配向を呈した。また、上下方向間と左右方向間に偏りはなかった。運動精子の曝磁区は頭部の扁平面を磁場の方向に対して垂直方向に向けて配向する割合が上方向では 22.0%，下方向では 21.6% と高い傾向にあったが他の曝磁を行った区については頭部の扁平面を水平に向けて配向する割合が高かった。

3.2 垂直配向率

上述の 8 つのカテゴリに分類した精子 (Table 1) を磁場の方向に対して垂直方向と水平方向の二つのカテゴリに分類した垂直配向率を Table 2 に示す。

運動精子、凍結死滅精子、および自然死滅精子について垂直配向率と水平配向率との分離比を比較すると、曝磁をした場合の垂直配向率はすべての実験区で 50% から外れて有意に高かった。

次に、精子の磁場配向に及ぼす酵素処理の影響について検討した。運動精子の垂直配向率は対照区が 48.2%，曝磁区が 73.0%，酵素処理曝磁区が 75.7% の順であり、対照区と曝磁区および酵素処理曝磁区間に有意差が認められたが、酵素処理曝磁区は曝磁区と比べて高い傾向にあったが有意差は認められなかった。凍結死滅精子と自然死滅精子については、酵素処理曝磁区が最も有意に高い配向率を示した。

また、精子の磁場配向が精子の生存に依存するのかを検討するため、各実験区について運動精子、凍結死滅精子、および自然死滅精子間を比較した。曝磁区について運動精子の垂直配向率は 73.0%，凍結死滅精子は 63.2%，自然死滅精子は 70.5% と凍結死滅精子の配向率が有意に低く、次いで自然死滅精子、運動死滅精子の順であった。また、酵素処理曝磁区についても同様に凍結死滅精子が最も有意に低く、ついで運動死滅精子、自然死滅精子の順であった。最も高い配向率を呈したのは自然死滅精子の酵素処理曝磁区の 75.9% であった。

これらの結果から、精子に対するシアリダーゼ処理は垂直配

Table 2 Perpendicularly oriented percentages (%) of motile and killed cattle sperm treated with sialidase and exposed to a magnetic field of 5400 G for 24 hours

Condition of sperm		N ¹⁾	Orientation	
Experiment			Perpendicular	Parallel
Motile sperm				
Non-exposed		1047	48.2 ^a	51.8
Exposed	Non-treated	1055	73.0 ^{bB}	27.0 ^{**}
	Treated	1065	75.7 ^{bB}	24.3 ^{**}
Freeze-killed sperm				
Non-exposed		1070	50.3 ^a	49.7
Exposed	Non-treated	1091	63.2 ^{bA}	36.8 ^{**}
	Treated	1061	69.4 ^{cA}	30.6 ^{**}
Naturally dead sperm				
Non-exposed		1019	49.7 ^a	50.3
Exposed	Non-treated	1090	70.5 ^{bB}	29.5 ^{**}
	Treated	1100	75.9 ^{cB}	24.1 ^{**}

¹⁾ N, Weighted mean of all the sperm in table 1.

^{**} Percentages in the same row with superscripts differ ($p < 0.01$).

^{a, b, c} Percentages in the same column within the condition of sperm with different superscripts differ ($p < 0.01$).

^{a, b} Percentages in the same column within an experiment with different superscripts differ ($p < 0.01$).

向率を高め、死滅精子でも磁場配向を呈することが明らかとなった。また、凍結死滅精子は垂直配向率が低下することが認められた。

3.3 個体による磁場感受性の差異

個体による磁場感受性の差異を調べるために各個体別の垂直配向率を Table 3 に示す。個体によって磁場による感受性が大きく異なり、90% の垂直配向率を示した個体もあれば、65% 程度の個体も存在した。曝磁をした場合の垂直配向率はすべての個体と実験区について 50% から外れて有意に高かった。運動精子について対照区の分離比が 6 個体中 4 個体について有意と判定されたが、これはサンプル封入時に上下左右方向のラ

Table 3 Perpendicularly oriented percentages (%) of motile and killed sperm of individual bulls treated with sialidase and exposed to a magnetic field of 5400 G for 24 hours

Code of bull		Motile sperm			Freeze-killed sperm			Naturally dead sperm		
Experiment		N	Perpendicular	Parallel	N	Perpendicular	Parallel	N	Perpendicular	Parallel
A bull										
Non-exposed		1064	45.5*	54.5**	1023	49.2*	50.8	1010	48.3*	51.7
Exposed	Non-treated	1031	63.9 ^c	36.1**	1039	63.4 ^b	36.6**	1278	64.3 ^b	35.7**
	Treated	1071	57.7 ^{ba}	42.3**	1021	61.5 ^{ba}	38.5**	1102	73.7 ^{cB}	26.3**
B bull										
Non-exposed		1042	43.2 ^{aA}	56.8**	1049	46.7 ^{aAB}	53.3	1025	50.5 ^{aB}	49.5
Exposed	Non-treated	1020	66.1 ^{bB}	33.9**	1010	58.6 ^{aB}	41.4**	1026	72.4 ^{bC}	27.6**
	Treated	1042	63.7 ^{ba}	36.3**	1043	63.1 ^{ba}	36.9**	1053	69.1 ^{bB}	30.9**
C bull										
Non-exposed		1116	59.7*	40.3**	1234	56.5*	43.5**	1033	56.9*	43.1**
Exposed	Non-treated	1098	73.0 ^{ba}	27.0**	1232	71.6 ^{ba}	28.4**	1029	86.0 ^{bb}	14.0**
	Treated	1042	74.0 ^{ba}	26.0**	1117	74.4 ^{ba}	25.6**	1260	83.8 ^{bb}	16.2**
D bull										
Non-exposed		1026	43.9*	56.1**	1011	48.0*	52.0	1019	46.5*	53.5
Exposed	Non-treated	1070	71.3 ^{bB}	28.7**	1042	54.2 ^{ba}	45.8**	1115	72.4 ^{cB}	27.6**
	Treated	1119	77.2 ^{cB}	22.8**	1116	54.9 ^{ba}	45.1**	1078	60.3 ^{ba}	39.7**
E bull										
Non-exposed		1016	48.9*	51.1	1069	51.2*	48.8	1006	45.6*	54.4**
Exposed	Non-treated	1049	81.0 ^{bB}	19.0**	1032	58.8 ^{ba}	41.2**	1055	60.8 ^{ba}	39.2**
	Treated	1029	90.8 ^{cC}	9.2**	1058	82.4 ^{cB}	17.6**	1097	76.7 ^{cA}	23.3**
F bull										
Non-exposed		1016	47.1*	52.9	1034	49.1*	50.9	1025	50.4*	49.6
Exposed	Non-treated	1062	82.3 ^{bB}	17.7**	1194	70.1 ^{ba}	29.9**	1036	68.9 ^{ba}	31.1**
	Treated	1089	90.6 ^{cB}	9.4**	1010	80.8 ^{cA}	19.2**	1012	91.1 ^{bB}	8.9**

2 replications per bull. 1000 or more sperm per replication.

**., ., ., . The probability of a significant difference is at the same level as in Table 2.

. . . Percentages in the same row with different superscripts differ ($p < 0.01$).

ンダム化が精子の運動によりできなかったことによる。

精子の状態別にみると運動精子、凍結死滅精子、および自然死滅精子のいずれの場合についても個体による磁場感受性の差異がみられ、特に高い垂直配向率を示した個体はF牛、E牛であり、また、C牛も高い配向率を示した。

運動精子について高い垂直配向率を示している個体と低い配向率を示している個体では異なる傾向を示した。高い配向率を示したF牛、E牛、およびD牛の精子は凍結処理による垂直配向率の低下がみられた。しかし、運動精子について中程度の垂直配向率を示したC牛および低い配向率を示したB牛とA牛の精子は凍結処理によっても垂直配向率の著しい変化はないが自然死滅によって垂直配向率が高まる傾向にあった。

3.4 運動精子サンプルにおける曝磁直前の精子運動性と曝磁後の配向率との間の相関関係

運動精子サンプルにおける曝磁開始直前の運動率(%)±SDと運動速度($\mu\text{m/s}$)±SDはそれぞれ、 83.2 ± 10.55 と 122.6 ± 13.76 であった。曝磁開始直前の精子運動性と曝磁後の配向率の間の相関係数をTable 4に示す。

曝磁区における曝磁前の運動率と曝磁後の垂直配向率との間の相関係数は0.649、運動速度との相関係数は0.796であり有意な正の相関関係を示した。しかし、酵素処理曝磁区については運動率との相関係数は0.554、運動速度とは0.250と低い値であり、相関係数の有意性は認められなかった。

4. 考 察

本実験ではチャンバ中央部で5400 Gの磁束密度を得るのが限界であったためこの磁束密度によって精子を曝磁した。そのために100%の精子が垂直配向するに至らなかった。

芦田ら¹⁰⁾は凍結ストロー精液を用いてSwim-up法によって運動精子を回収し、低温条件下で運動を停止させた場合とグルタルアルデヒドで固定した場合の定常磁場配向を調べた結果、10000 Gではほぼ100%の精子が垂直配向する結果を得ている。

本実験では約半分の磁束密度である5400 Gで曝磁したところ、個体についての垂直配向率が約65%から約90%であり個体間差が明瞭に認められた。また、凍結死滅精子および自然死滅精子についても垂直に配向したため、射出後の成熟精子についてはその後の精子の生存に関わらず垂直配向することが明らかとなった。

当初、精子の構成成分中の磁性物質の存在やDNAの磁場による影響について明らかでないため、精子における磁場配向の原因の一つとして、磁場環境下における原形質膜表面の糖タンパク質に結合するシアル酸の細胞膜負荷電が精子の活発な運動や浮遊によってローレンツ力的な影響が働くことと原形質膜との相加的な関与を考えていた。

しかし、運動精子と死滅精子についてシアリダーゼ処理した曝磁精子の垂直配向率は曝磁区と比べて高く、このことは、精子の原形質膜表面の負荷電は磁場による垂直配向を阻害することを示唆している。また、自然死滅精子のシアリダーゼ処理区が最も高い垂直配向率を示したことは精子が老化と死滅を経ることによる荷電量の相対的な減少とシアリダーゼ処理による配向を阻害する膜負荷電の相加的な低下に起因すると考えられる。

個体による磁場の感受性の傾向として運動精子について高い垂直配向率を示した個体の精子は凍結処理によって著しく低下し、中程度または低い配向率を示した個体の精子は凍結処理による顕著な変化を示さないが自然死滅によって配向率が増加す

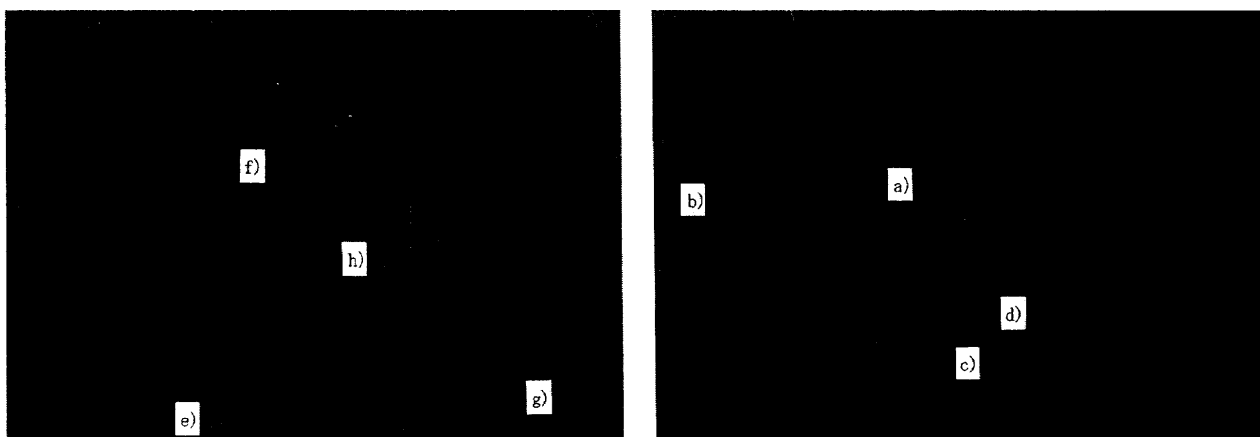


Fig. 3 Magnetic orientation of cattle sperm in 5400 G (original magnification 200×). Left: non-exposed. Right: treated with sialidase and exposed (highly oriented sample).

Table 4 Correlation coefficient between the oriented percentage and the sperm motility or the sperm velocity before exposure to a 5400-G magnetic field for motile sperm

Experiment			Sperm motility	Sperm velocity
Exposed	Non-treated	Oriented percentage	0.649*	0.796**
	Treated	Oriented percentage	0.554	0.250

Correlation coefficients with superscripts are significant (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

る傾向が得られた。磁場配向における個体差の原因について不明である。凍結処理の精子への影響として原形質膜の物理的破損が生じているため、除膜精子モデルを用いた場合の配向率の変化について現在検討している。

運動精子における曝磁開始前の運動性と曝磁後の垂直配向率の相関関係について、曝磁区の場合は有意な正の相関関係を示した。このことは、射精後の運動性の高い精液サンプルは高い垂直配向率を呈することを示唆している。酵素処理曝磁区の場合の相関係数の低下は運動性の低い精液サンプルの場合でもシアリダーゼ処理によって配向率が向上したサンプルがあることに起因すると考えられる。

5. ま と め

本実験はウシの運動精子と死滅精子における膜表面荷電物質であるシアル酸と定常磁場配向との関連について調べた。実験は6頭の種雄牛を供して1種雄牛当たり2反復を行った。種雄牛の原精液は精子濃度 10^7 cell/ml に希釈した後に、運動精子、凍結死滅精子、および自然死滅精子の三つの状態に調整した。これらの状態の精子懸濁液にシアリダーゼを 1 mg/ml 添加して 30℃ で 1 時間培養した。曝磁はネオジ磁石を用いて 5400 G の磁場に 38℃ 下で 24 時間曝露して精子の配向の状態を鏡

検した。実験の結果、シアリダーゼ処理は精子の配向を高め、自然死滅精子をシアリダーゼ処理して曝磁した場合が最も高い配向率を示した。これらの知見より細胞膜の負荷電は精子の配向を阻害することが示唆された。しかし、凍結死滅精子の配向率は自然死滅精子や運動精子と比べて低い配向率であった。また、個体による磁場の感受性の差異が顕著に認められた。

謝 辞 本実験データの統計処理に当たり、懇切な御助言を頂いた東京理科大学芳賀敏郎教授に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) 上野照剛, 須田隆夫, 岩坂正和, 津田博子: 電気学会論文誌 A, 111, 800 (1991).
- 2) T. Higashi, S. Sagawa, N. Ashida, and T. Takeuchi: *Bioelectromagnetics*, 17, 335 (1996).
- 3) F. P. Bretherton and L. Rothschild: *Proc. Roy. Soc. London, Ser. B*, 153, 490 (1961).
- 4) A. M. Roberts: *Nature*, 228, 375 (1970).
- 5) J. M. Branham: *Biol. Bull.*, 131, 251 (1966).
- 6) 森沢正昭, 森沢幸子: 精子学, 毛利秀雄 (監), 森沢正昭・星元紀 (編), pp. 116-120 (東京大学出版会, 東京, 1992).
- 7) A. C. Nevo, I. Michaeli, and H. Schindler: *Exp. Cell Res.*, 23, 69 (1961).
- 8) 栢田博司, 高橋政義, 関野美晴, 川倉一彦, 福島達哉, 西村 實: 日畜会報, 60, 409 (1989).
- 9) 亀井裕孟, 横山 浩: 第 5 回日本生体磁気学会大会論文集, 3, 93 (1990).
- 10) 芦田信之, 東 照正, 竹内徹也: 日本生体磁気学会論文誌, 9, 29 (1996).
- 11) S. Ohno: *Proc. Int. Symp. on Beef Production*, Kyoto, pp. 263-273 (1983).
- 12) S. Kaneko, S. Oshio, T. Kobayashi, R. Iizuka, and H. Mohri: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 124, 950 (1984).
- 13) 新城明久: PC SAS による基礎統計学入門, pp. 141-151 (東海大学出版会, 東京, 1995).
- 14) 新城明久: 新版 生物統計学入門, p. 12 (朝倉書店, 東京, 1996).

1997 年 11 月 17 日受理, 1998 年 2 月 2 日採録