

ウニ卵の人工處女生殖の研究*

XIV. 蒸溜水や尿素液による膜形成とその増感法

梶 山 正 雄 (名大理菅島)

(昭和 24 年 12 月 20 日受領)

1. 蒸溜水や尿素溶液によつて、ウニ卵に膜形成をおこさせることができるということは、Just や元村によつて前から知られている。日本産のウニでは、私が実験した限りにおいては、バフンウニの卵が最も実験がしやすく、ほとんど 100% の膜形成ができる。ところがアカウニでは、蒸溜水による膜形成はほとんどできないし、尿素溶液による膜形成もバフンウニに比べてむづかしく、たとひできてきても率がひくいことが多い。私は本研究の第 1 報、第 2 報において、蒸溜水法や尿素溶液法と鹽類イオンとの関係をバフンウニの卵について実験した結果を報告したが、同じような実験をアカウニの卵についても試みようとして、どうしても成功することができなかつた。それは鹽類イオンの如何にかゝらず、アカウニでは蒸溜水や尿素溶液で膜形成がおこりにくくて実験にならなかつたのである。バフンウニでできて、アカウニでできないのはなぜだろうかという問題は今後の問題としても、さしあたり何とかしてアカウニの卵に 100% 膜形成をおこさせる方法はないかと、いろいろ実験した結果、私は一つの方法を見付けるとができた。こゝにその方法を報告したいと思う。

実験材料は菅島産アカウニ *Pseudocentrotus depressus* である。

2. まず蒸溜水による膜形成の場合についてのべよう。アカウニの未受精卵を蒸溜水に入れ 3 秒から 40 秒までのいろいろの時間おいてから、海水にもどしても、膜は形成されない。バフンウニの卵では、温度によつて多少ちがうが、大體 5 秒から 10 秒の處理で膜形成がおこるのに、アカウニの卵ではこれより廣い範圍の時間について実験して見ても膜形成がおこらないのである。そして長い時間處理したものは細胞分解してしまうのである。

ところが、アカウニの未受精卵を、あらかじめ 0.54 M NaCl 溶液で 3 分間洗い、その後に蒸溜水處理をすると、次の第 1 表のように、100% にちかい膜形成が得られることがわかつた。

第 1 表 (温度 20°C)

蒸溜水で處理した時間(秒)	5	7	10	15
膜形成率(%)	96	28	0	0

第 2 表 (温度 20°C)

NaCl 溶液で洗つた時間(秒)	30	60	90	120
蒸溜水で 5 秒處理した時の膜形成率(%)	100	98	99	93

これで、NaCl 溶液で前處理すると、卵は蒸溜水に對して反應できるようになること、即ち増感 (Sensitization) されることがわかつた。このことは、第 3 報で報告した減感という言葉に對して、増感と呼びたいと思う。この増感とは 0.54 M NaCl で何分洗えば得られるかということを知るために、洗う時間をいろいろ變えて實驗して見た。その結果 1 例は第 2 表の通りで 30 秒で十分であることがわかつた。

次に NaCl 以外の鹽類溶液について、増感の作用があるかどうかを見た。第 3 表は各溶液で 1 分洗つてから、蒸溜水で 5 秒又は 7 秒處理した場合の膜形成を見た實驗の 1 例である(温度 15°C)。

この結果から見ると、NaCl 溶液、KCl 溶液、Ca・Mg 缺除海水が増感に有效であることがわかる。Ca や Mg のような 2 價陽イオンがふくまれていると、増感できないのである。このことから考えると、Ca や Mg をふくまない液で洗うことに意味があるように思われる。

3. アカウニの卵は尿素による膜形成がおこりにくい。これも蒸溜水の場合のように、NaCl 溶液などにより増感ができるかどうかを見た。第 4 表はその 1 例である (實驗温度 21°C)。

この表でわかるように、尿素溶液の場合にも、Ca や Mg をふくまない Na 又は K のみの溶液で洗うことによつて増感されるのである。

4. 以上はアカウニについての實驗であるが、他の種類のウニについてはどうであろうか。バフンウニで

*本研究は文部省科學研究費によるものである

第 3 表

前 處 理 の 液	蒸溜水で5秒処理した時の膜形成率(%)	同じく7秒処理した時の膜形成率(%)	同じく10秒処理した時の膜形成率(%)
0.54M NaCl溶液	96	89	11
0.54M KCl 溶液	95	92	43
0.36M MgCl ₂ 溶液	0	0	0
0.36M CaCl ₂ 溶液	0	0	0
Ca 缺 除 海 水	0	0	0
Ca, Mg 缺除海水	89	67	31
前処理しない場合	0	0	0

第 4 表

前 處 理 の 液	尿素液で5秒処理した時の膜形成率(%)	同じく7秒処理した時の膜形成率(%)	同じく10秒処理した時の膜形成率(%)
0.54M NaCl 溶液	100	47	5
0.54M KCl 溶液	92	47	0
0.36M MgCl ₂ 溶液	0	0	0
0.36M CaCl ₂ 溶液	0	0	0
Ca 缺 除 海 水	0	0	0
前処理しない場合	尿素液で5秒から120秒までの各時間処理しても膜形成はおこらない		

はもともと100%近く膜形成がおこるが、これをNaCl溶液で洗えば蒸溜水や尿素で処理する時間が短くてもよいになるかどうか。これについても実験をして見たが、5秒以内の処理時間を正確にして行うことは技術的にむづかしく、はつきりしたデータが得られなかつた。しかし、時間が短くてもよいという傾向にあることはわかつた。

ムラサキウニでは蒸溜水や尿素溶液で100%膜形成をおこさせることがむづかしいので、アカウニと似ているように思われた。したがってNaCl溶液で洗うことによつて増感されるのではないかと考えて実験をこころみたが、結果は不成功に終つた。第5表はその1例である。

第 5 表 (温度 28°C)

尿素溶液で処理した時間(秒)	2	3	5	7	9
前処理しない対照卵の膜形成率(%)	51	32	55	0	0
0.54M NaCl 溶液で3分洗つてから尿素処理した場合の膜形成率	37	38	42	0	0

ムラサキウニについてはもう少し研究して見る必要があると思う。

Ca や Mg をふくまない液で洗うことが少くともアカウニでは、蒸溜水や尿素溶液による膜形成法の増感になるということは、どういう意味があるであろうか。単にCa や Mg を卵の表面からとり去ることであろうか。それならば1M尿素溶液の場合のよ

うに無鹽等調溶液を用いれば、処理時間を長くすることによつて膜形成をおこさせることができるはずであるのに、そうはならないから、何かもつと複雑なことがあると思われる。処理時間を長くすると、膜をあげる過程はおこるが、膜がとけてしまうので膜形成がおこらないという可能性もある。人工處女生殖法の増感については、Loeb ('07 '08) Robertson ('12) が血清による膜形成実験で、あらかじめ卵を SrCl₂ 溶液などで、処理すると増感されるという報告があるが、私のこの実験とはまだむすびつけて考える材料にならない。これらは今後に残された問題であるが、以上のべた増感法を應用することによつて、アカウニの卵で蒸溜水又は尿素溶液による膜形成の研究が樂に行われるようになると思う。

文献 Loeb, J. '07, Pflügers Arch., 18, '08 ibid. 122, 124. Robertson, T. B. '12, J. Biol. Chem., 1. 榎山正雄 '47, 動雜 57, 5, 8.

Résumé

Studies on the Artificial Parthenogenesis in the Sea Urchin Eggs. XIV. The Method to sensitize the Eggs for Membrane Formation by Distilled Water or Urea Solution.

MASAO SUGIYAMA (Nagoya Univ.)

It has been known that the sea urchin eggs can be activated by distilled water or urea solution. But the activation by these methods was found to be difficult in the eggs of *Pseudocentrotus depressus*. I found that if *Pseudocentrotus* eggs were washed in 0.54M NaCl solution for a few minutes, the membrane formation could be induced by the treatment in distilled water or urea solution. Ca, Mg free sea water and 0.54M KCl were also effective to sensitize the eggs. The solution containing Ca or Mg was ineffective.