

アユ卵の活性化に対する卵巣液並びに生物体液の影響

伊 東 鎮 雄 (熊本大学理学部生物学教室)

昭和 30 年 5 月 12 日受領

接水により正常受精と同様に活性化するアユ卵は高調, 等調生理的食塩水 ($\text{pH}=7.0\sim 7.3$) 中にて, それぞれ塩濃度に応じて活性化が遅延するが完全に抑制されることがない。しかし生理的食塩水の pH の影響をみると, 適当なるアルカリ性 ($\text{pH}=7.8\sim 9.4$) である時, 活性化が抑制され, 酸性 ($\text{pH}=3.0\sim 5.2$) では逆に促進される傾向がある。ウグイ卵に於ては媒液の塩及び膠質の濃度が高くなるにつれて卵の活性化遅延を増大させるが完全なる抑制作用がないことから, 卵巣液の活性化抑制作用に就いて調べる必要があると考えて, ウグイ卵と同じく接水活性化するアユ卵で卵巣液その他の生物体液に就いての影響を調べたその結果に就いて報告する。本文作製に際して御指導して載いた熊本大学助教授後藤源太郎先生並びに御助言と御批判を載いた恩師北海道大学助教授狩野康比古先生に厚く御礼の辞を申し上げる。

材 料 及 び 方 法

アユ (*Plecoglossus altivelis*) の採集地, 期間, 採卵及び保存, 生理的食塩水の原液, pH 測定, 及び実験液中の卵の活性化の表わし方等は前報と同様である。実験温度は $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ である。

結 果

I. 卵巣液並びに生物体液の影響

アユの成熟卵巣を濾紙にて分離して集めた卵巣液中に卵を入れると, この液中では安定であり長時間処理 (10 時間) でも活性化が起きない。これを水道水に返すと常に正常に活性化する。又, 等調, 高調生理的食塩水 ($\text{pH}=7.3$) では受精能が 1 時間処理で既に無いか, 或は相当に減退するのに反して, 卵巣液中にては, 受精能は 2~4 時間後も高率 (90% 以上) に保持する。しかし卵巣液は実験液として用うる程, 多量に得ることは多数の材料を必要として困難であり, アユの卵巣液と同様の条件 (等滲透圧に近く, 且つ膠質) を具えて比較的得やすいものにニワトリの卵白, 哺乳類の血清が考えられる。アユ卵, 卵白及び羊の血清の氷点降下を測定した一例では, アユ卵 $\Delta=0.58$, 卵白 $\Delta=0.55$, 羊血清 $\Delta=0.56$ で, ほぼこれらは滲透圧的に大差ないものと見做すことが出来る。そこで卵白及び犬, 羊の血清中にアユ卵を処理してみると, 卵巣液と同様に上記の生物体液では活性化が起きない。又, 4 時間後, 之を水道水に移すと正常に活性化する。同じ抑制作用を有するアルカリ性生理的食塩水では, 卵は 2~3 時間処理迄は可逆的に活性化が抑制されるが, 4 時間処理では水道水に移しても活性化しないから卵巣液及び生物体液とアルカリ性生理的食塩水とは異なる。従つてこれらの液では卵は活性化能力の障害を受けないと考えられる。これらの活性化抑制作用のある卵巣液並びに生物体液を M/7 生理的食塩水, M/3.5 グルコース溶液, 或は蒸溜水 (各液, $\text{pH}=7.5$) にて稀釈した実験液に卵を処理した 2 時間後の活性化 (表層変化, 卵膜扛拳, 二極分化) の進行程度は第 1 表の様である。即ち, アユの卵巣液を等調生理的食塩水にて稀釈した場合, アユ卵は 5 倍稀釈迄の液では活性化が起きず, 10 倍稀釈にし活性化を起す様になる。又, その他の生物体液では生理的食塩水稀釈の場合は 20 倍迄, アユ卵は活性化を起さないが 40 倍では活性化が起きる様になる。生物体液をグルコース溶液或は蒸溜水にて稀釈した場合は 5 倍稀釈迄, アユ卵は活性化を起さないが, 10 倍では活性化が起きる。グルコース或は蒸溜水にて稀釈した場合は同じ結果を示していることは, サケ, ウグイ, アユ卵に於て活性化は非電解質溶液の濃度に影響されないことと一致する。犬, 羊の血清の活性化抑制濃度 5 倍稀釈 (グルコース, 蒸溜水) はその液に含まれる塩濃度を最高に推定しても約 M/30 の NaCl に相当し, 狩野 ('52) によるとこの程度の濃度の生理的食塩水ではほとんど水道水に近い速度にて表層変化, 卵膜扛拳, 二極分化を行うのであるが, 上述の様に犬, 羊の血清が混入している場合の M/30 に於ける稀釈媒液では活性化しないことか

第 1 表 稀釈した生物体液 2 時間処理の活性化の状態

媒	液	活性化	媒	液	活性化
卵巣液		—	犬血清 1 部+glucose	4 部	—
卵巣液 1 部+Ringer	4 部	—	" + "	9 部	卅
" + "	9 部	卅	" + d. water	1 部	—
卵白		—	" + "	4 部	—
卵白 1 部+Ringer	4 部	—	" + "	9 部	卅
" + "	9 部	—	羊血清		—
" + "	19 部	—	羊血清 1 部+Ringer	4 部	—
犬血清		—	" + "	9 部	—
犬血清 1 部+Ringer	4 部	—	" + "	19 部	—
" + "	9 部	—	" + "	39 部	+
" + "	19 部	—	" + d. water	1 部	—
" + "	39 部	+	" + "	4 部	—
" + glucose	1 部	—	" + "	9 部	卅

ら、及び生理的食塩水の稀釈の結果からも、卵白及び犬、羊の血清には塩分以外の原因が活性化を起させないことに関係していることを示す。上記の液中に於ける活性化抑制の可逆については、卵白及び犬、羊の血清の生理的食塩水稀釈にて 2 時間処理では 10~20 倍でも水道水に移して活性化するが、4 時間処理になると 5 倍稀釈迄は活性化が可逆的に抑制されていて水道水に移すと活性化するが、10 倍以上の稀釈になると水道水に移しても活性化し得なくなる。即ち生理的食塩水稀釈の量が多くなる程、且つ処理時間の長くなる程、可逆的活性化抑制でなくなる。之は生理的食塩水の影響と考える。

11. 膠質の影響

ウグイ卵では膠質は活性化を遅延させるが(狩野及び伊東, '53), 上記生物体液は膠質である故、膠質の影響をみるため、卵製アルブミン(武田)、アラビアゴムを M/7 生理的食塩水 (PH=7.3) に溶かして実験液と

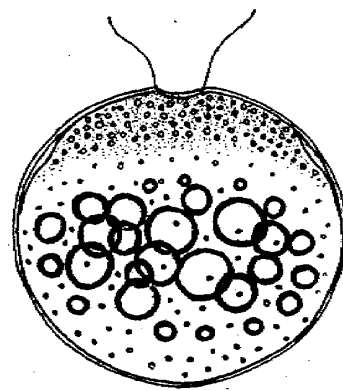
第 2 表 膠質生理的食塩水 2 時間処理の活性化の状態

媒	液	活性化
15% アルブミン M/7 Ringer		+
10% "		+
5% "		卅
10% アラビアゴム M/7 Ringer		+

及び集った動物極原形質中に多数の表層胞が残存する(第 1 図)。従つてこの場合も活性化が遅延するが起きると考えられる。5% アルブミンは等調生理的食塩水 (pH=7.3) の活性化に比較して大差がない。又、アラビアゴムでは同様に表層変化は不充分で卵全体の胚卵腔が微かであり不完全の胚盤を形成する。これらはウグイ卵のアラビアゴム処理の結果に似る。上の結果から膠質生理的食塩水では活性化を卵巣液或は生物体液の様に抑制することは出事ない。従つて卵巣液その他の生物体液の抑制には塩、膠質が関係する以外になお別の原因があると考えられる。

(13)

して活性化に対する影響をみた。その結果は第 2 表である。アルブミン 10 及び 15% では、ほとんど表層変化も不充分で且つ媒液の高濃度の膠質のために卵膜扛拳が認められぬか、又は卵表周囲に微に認められる胚を形成する。併し動物極に原形質の集積が漸次行われる故、従つて胚盤は全く隆起しないで、卵表、



第 1 図 10%アルブミン M/7 生理的食塩水 2 時間処理のアユ卵

III. 卵巣液並びに生物体液の pH の影響

生理的食塩水の pH が卵活性化に関係することから、活性化を起させないアユの卵巣液、卵白及び犬、羊の血清を牛腸膜にて流水中 20 時間透析した膠質液 (A 液)、或は上記生物体液を同量の M/7 生理的食塩水、又は蒸溜水 (両液とも NaHCO_3 を加えない) で低温 ($8\sim 10^\circ\text{C}$) にて 15~20 時間透析し得た滲出液 (B 液) を媒液として、アユ卵の活性化に対する影響をみた。なお元来の生物体液、及び B 液の pH を測定

第 3 表 透析処理の生物体液 2 時間処理の活性化の状態と pH の関係

媒液	pH	活性化	媒液	pH	活性化
卵巣液	7.8	—	犬血清 A 液		卅
同 A 液		卅	同 B 液 (d. water)		—
同 B 液 (Ringer)	7.8	—	同 B 液 (Ringer)		—
卵白 A 液		+	羊血清	8.0	—
同 B 液 (d. water)		—	同 A 液		卅
同 B 液 (Ringer)	8.1	—	同 B 液 (Ringer)	8.2	—

した。その結果は第 3 表である。即ち、卵巣液、その他の生物体液は pH がアルカリ性で前報の活性化抑制範囲 ($\text{pH}=7.8\sim 9.4$) にある。いづれの生物体液の膠質 A 液 (塩濃度低下) 中ではアユ卵の活性化が起きる。卵白 A 液では他の生物体液 A 液より活性化が遅延するが、之は卵白の膠質濃度が他の液より大なるためと考える。然るに透析膜に対して溶出した B 液では卵は活性化を起さない。蒸溜水の場合、透析が充分平衡に達したと考えるも晶質滲透圧は元来の 1/2 に減じはいるわけであるが、これらの B 液でも活性化しない。即ち上記生物体液のアユ卵に対する活性化抑制は透析される側にあることを示し、且つ B 液をアルカリ性であることから、卵巣液、生物体液の抑制はアルカリ性であることが関係しているのではないかと考えられる。しかし B 液では 4 時間処理になると、アユ卵を水道水に移しても活性化し得ない。即ち、アルカリ性生理的食塩水と同様の結果を示すから、生物体液の充分な活性化抑制条件としては、生物体液の膠質にも原因がある様に考えられる。

次に生物体液を同量の生理的食塩水にて透析して滲出した B 液に N/10 HCl を適当量加えて酸性にして

第 4 表 加酸による pH 変更及び加熱の B 液 2 時間処理の活性化の状態

卵白 B 液	PH	活性化	羊血清 B 液	PH	活性化
B 液 (Ringer) 加熱		—	B 液 (Ringer) 加熱		—
B 液 10 部+d. water 3 部	8.0	—	B 液 10 部+N/10 HCl 3 部	6.0	卅
" + N/10 HCl 3 部	2.3	Cyt.	" + " 2.5 部	6.6	卅
" + " 2 部	6.4	卅	" + " 2 部	8.2	—
" + " 1.5 部	7.2	卅			—

アユ卵の活性化に対する影響をみた。上記 B 液に加酸後直ちに卵を入れて、実験終了後直ちに pH を測定した。又、B 液を加熱 (100°C , 2 分) して実験液とした。その結果は第 4 表である。加熱した B 液では依然活性化を起さない。加酸により pH を酸性にした B 液では活性化が起きる。以上のことから卵巣液卵白及び犬、羊の血清を媒液とした場合、アユ卵が活性化を起さないのは、その生物体液の晶質に原因し、先づ塩濃度、次に pH がアルカリ性であることが関係していると考えられる。しかし実験結果より、透析前の卵巣液、生物体液を媒液とした場合、4 時間処理にてもアユ卵の活性化が可逆的に抑制されているのに反して、アルカリ性の生理的食塩水、或は生物体液 B 液 (除膠質) の場合、同時間処理にして不可逆的になることに差異がある様であるから生物体液の膠質も活性化の抑制に関係すると考えられる。

考 察 及 び 結 論

サケ卵に於て卵巣液は活性化抑制作用があり同様にほぼ等調の M/6~M/8 生理的食塩水 (pH=7.0) も活性化抑制作用がある (久佐, '50)。しかしサケ卵では卵巣液と生理的食塩水の間に差異はない。之はサケ卵が等調生理的食塩水中で活性化しないためである。アユ卵に於ては、等調生理的食塩水と卵巣液とについてアユ卵の活性化に対する影響をみると差異がある。即ち生理的食塩水 (pH=7.0~7.3) 中ではアユ卵は活性化の遅延を生じるが完全に活性化の抑制を受けない。然るに卵巣液中では全く活性化が起きない。しかし前報の様にアルカリ性生理的食塩水 (pH=7.8~9.4) では卵は活性化を起さない。しかも卵巣液及び活性化を同様に生ぜしめない卵白及び犬、羊の血清がアルカリ性生理的食塩水と同様に活性化を起させない pH の範囲にあることから、それらの抑制は、塩、膠質以外にてアルカリ性であることが原因していると考えられる。更に上記の生物体液のアユ卵活性化抑制には、塩及び pH 以外には生物体液の膠質について考慮する必要があることは、生物体液を生理的食塩水を以て薄めて行くと稀釈量が多くなる程、及び除膠質の生物体液では、アユ卵の処理時間が長くなると、水道水に移しても活性化が行われなくなる。之はアルカリ性生理的食塩水の場合と同様である。然るに、生物体液のみ、或はそれらの生理的食塩水 5 倍稀釈迄は長時間処理によるも、アユ卵は水道水に移すと活性化が起きる。即ち生物体液の膠質の存在では長時間処理でも可逆的活性化抑制が行われる。このことは、生物体液の膠質にも活性化抑制に関係するものがあると考えられる。

Résumé

Studies on the Effect of Ovarian and Other Organic Fluids upon the Activation of Eggs of a Fresh Water Fish, *Plecoglossus altivelis*

Shizuo Ito

Biological Institute, Faculty of Science, Kumamoto University

Whereas the activation of Ayu eggs takes place gradually in hypertonic or isotonic Ringer's solution (pH=7.0-7.3), the eggs immersed in the ovarian fluid remain intact. Egg white and serum of dog or sheep, which are nearly isotonic, act as inhibitors for the activation in the same manner as the ovarian fluid does. When these organic fluids are diluted with M/7 Ringer's solution, M/3.5 glucose or distilled water, activation takes place in the diluted media lower than 1/10 (glucose, D. W.) and 1/40 (Ringer). When organic fluids are dialyzed, activation takes place in the non-dialysate, but it does not occur in the dialysate. Activation takes place also in the other colloidal Ringer's solutions (gum arabic, albumine dissolved in M/7 Ringer). When some amounts of N/10 HCl are added to the dialysate, activation takes place. This seems to indicate that the inhibition of activation is due to the alkaline media or the higher salt concentration of ovarian and other organic fluids. But there are some differences between organic fluids (ovarian fluid etc.) and their crystal parts or alkaline Ringer's solution. In the former, activation is inhibited reversibly for some hours, while in the latter, the ability of activation is lost irreversibly for the same time. Therefore, it is considered that the colloid substance of these organic fluids takes part in the inhibition of activation.