

Merthiolate によるウニ卵の膜形成について

梶山 正雄・石川 優 (名大・理・臨海)

ウニ卵の受精膜形成過程を、その扛拳と硬化の二つに分けて考えると、硬化の方は近年実験的に次第に明らかになされてきたが、扛拳の方はまだ不明の点が多い。膜扛拳を卵胞のコロイド浸透圧によると考え、そのコロイドを表層粒から由来するという考えが従来あつたが、近年 merthiolate により表層粒崩壊と無関係に膜扛拳が起る事がわかり注目されている。そこで merthiolate による膜形成の内容をサンショウウニを材料として検討してみた。4% 溶液では殆んど表層粒がこわれぬのに数分内に膜形成が起り、正常より軟かくて高く上る。4% より薄い表層粒崩壊を伴う膜形成が起る。merthiolate の作用は、卵の一部に働かせると全表面に伝わる性質をもっており、又ウレタン麻酔やウレタン存在により抑制される。従つて merthiolate は伝導性の変化から始まる表層変化を起すが、4% の濃度では表層粒の崩壊を抑制すると結論される。

問 merthiolate で表層粒の破壊を抑えた後受精膜がもち上るのは何によるのか。(団勝磨)

答 卵胞腔物質が表層粒以外のものから由来するという考えと、表層粒がこわれなくとも表層粒から出てくる物質であるという考え方とがあると思うが、まだわからない。

問 merthiolate で処理して膜を上げた場合に、透明層は見られるか。(遠藤善之)

答 薄いがあるようだ。

問 merthiolate で形成された膜を“受精膜”と呼んでよいか。(川上泉)

答 真の受精膜とは、表層粒物質が附いていない点などでちがうから、厳密には受精膜とは呼べないであろう。

ウニの受精膜硬化の第3要素の存在部位 元村 勲 (東北大・理・動)

固定液は硝酸カドミウム 5g, ピクリン酸 1g, フォルマリン 10cc, 水 90cc の混合液を用いた。これは塩基性物質だけでなく酸性物質も固定し、染色も容易なので、普通の観察にも適している。これを用いて固定したウニの未受精卵の材料をパラフィン切片とし、塩基性染料によりヤヌス緑粒を染めることができる。また切片を過マンガン酸カリで前処理のち硝酸カドミウムを混じたアリザリン赤水溶液 (0.5%) で染色、水洗のち硝酸コバルトで染料を足止めすればヤヌス緑粒の層の直下に $0.2-0.1\mu$ の大きさの小粒子をみとめる。これはクロマトグラフの染色、および展開したこし紙上に卵が附着する部位から判断して第3要素の粒子と考えられる。受精卵にはこれはみとめられない。上記の固定材料をアリザリン液で染め硝酸コバルトで足止めするか、重クロム酸カリで媒染のちヘマトキシリン 1% 水溶液で染色、アルコール脱色、醋酸銅で発色を行い、パラフィン切片とすれば卵の同部位に上記と同じ小粒子をみとめる。なお銀染法によつても同様の結果をえた。よつて第3要素はヤヌス緑粒層の直下に存在し、受精によつて放出されると考えられる。

問 第3要素粒は受精後卵胞にも染め出されるか。(狩野康比古)

答 この方法では染め出されない。

問 第3要素は顆粒のを生の場合でもとつていると考えられるか。(川上泉)

答 生ではまだ観察可能になつていない。固定標本では微少な顆粒と考える。

問 第3要素顆粒は卵表面から何 μ 位の所にあるのか。(平本幸男)

答 ヤヌス緑粒の直下に密接して存在する。

ウニ卵の受精膜扛拳に対する Ca イオンの影響 石川 優 (名大・理・臨海)

受精膜扛拳中のウニ卵を過剰 Ca 海水に移すと、膜扛拳途中の状態にとまる。このような状態にとめるに必要な Ca の量を決めるのに、Ca・Mg 欠除海水へ 10/27 M CaCl₂ を加えて実験した。パフンウニ卵で

は 3% までは容易に扨挙するが、4-5% でやや困難、7% 以上で完全におさえる。

特に 10% 含有の場合は sperm entrance mark を膜にのこして完全な部分扨挙の状態にとまる。過剰 Ca にて不分離にした膜部分は non-electrolyte (urea, H₂O) 及び電気刺激 (100 V, 2 mA, 1/5 sec) によつて分離するようになる。4% merthiolate 海水処理によつて表層粒の崩壊なしに膜扨挙した卵に Ca を加えて過剰にすると膜は沈下する。これを non-electrolyte にうつすと再び膜扨挙をする。これらのことは膜扨挙物質に Ca が吸着し、Ca をとり去る条件における膜をあげる状態になることを示す。あがりつつある受精膜は Ca に対して透過性をもつが、形成される膜及び卵卵腔に Ca の低濃度となる条件 (膜硬化、卵卵腔の構造形成など) がつくられ扨挙物質が容易に膜をあげるようになっていっているものと考えられる。

メダカの未受精卵の膜電位と付活に伴う電位変動 堀 令司 (富山大・文理・生)

メダカの未受精卵に微少電極を挿入して、静止膜電位を測定した。M/7.5 リンゲル液中に於ける卵膜の接触電位は、 $-20 \sim 10$ mV、卵の表層部の膜電位は $+10 \sim 5$ mV、卵黄部では、最高 $+35$ mV であつた。automatically に activate された卵の膜電位は、未受精卵のそれと意味のある差はなかつた。perivitelline space の電位は、殆ど 0 であつた。付活に伴う電位変動は、表層胞の潰崩に先行する $30 \sim 50$ mV の振幅をもつた 1 回だけのスパイクがあらわれ、その後 $30 \sim 40$ 秒後に電位の下降がおこる。又このスパイクがあらわれない限り、表層胞の潰崩がおこらない。表層胞の潰崩は、その電位の下降中に起り、それが殆ど潰崩し、卵膜が完全に分離する頃には、電位は再び上昇して、未受精卵のそれに近い値に達する。

問 1. 外液は何を使つたか。内側 + の膜電位が得られたというが、鎌田は外液の条件がちがうかもしれないが、内側 - の膜電位を測つていた様に思うが。それとの関係はどうか。2. 表層胞崩壊に先行する spike はどの様な形をしているか。(平本幸男)

答 1. M/7.5 Ringer's solution. 鎌田は外液に M/8 Ringer's solution を使つて -1 mV 以下の電位差を測定していたと思う。2. 振幅は $30 \sim 40$ mV 時間は現在の段階ではわからない。

二枚貝の人工単為生殖に於ける陽イオンの働き 山本 忠 (三重大・学芸)

シオフキ、クチバガイ等の二枚貝は種々の刺激により付活され遊泳幼生にまで発生する。ここでは陽イオンの作用について御報告する。種々の等張陽イオンを働かせた結果 1/2 モル KCl にて処理した場合に良い結果が得られ、しかも $30 \sim 60$ 秒で付活率は高くなりその一部は幼生になることを知つた。1/2 モル KCl 処理に於て 30 分以上では付活率は低下し幼生にまで発生が進まない。これは卵内の Ca⁺⁺ が洗い出された結果と考える。二種の陽イオンの混合液で処理した場合は K⁺ の効果が Ca⁺⁺ で抑制されることをみた。K⁺, Na⁺, Ca⁺⁺ の組合せに於ては付活に要する時間関係が分り付活しにくい組合せが区分された。次に Ca 欠除海水中に於ける付活をしらべる為、卵を蔭酸カリウムで洗つて Ca 欠除海水中にうつした。胚胞の崩壊は見られたが卵割に到らなかつた。

綜 合 討 論

問 Ca-free の卵の thin section を作つたらどうなるか。(岡勝磨)

答 それは岡夫人に頼んである。(遠藤善之)

問 merthiolate 処理によつて扨挙した膜は硬化するか。(大塚英司)

答 正常のものに於ける様な硬化は起らず、かなり軟かい。しかし Ca 欠除海水中でできた膜よりは硬いようである。(相山正雄)

問 第三要素の存在する部位は pigment granule の存在する位置の外側か。(遠藤善之)

答 ヤヌス緑層の直下で色素粒層の外部 (上) と考える。それは表面からの両者のへだたりのちがいが判