

ウニの精子の受精能力に及ぼすグリコシダーゼの作用

相山正雄（相女大），加藤宏一（名市大・教養）

Effects of glycosidases on the fertilizing capacity of sea urchin spermatozoa

MASAO SUGIYAMA, KOICHI KATO

ウニの精子の受精能力に及ぼすグリコシダーゼの影響を、精子の卵海水処理と関連させて研究した。実験材料はアカ、バフン、ムラサキ、ナガの4種のウニである。グリコシダーゼは生化学工業製。ホラガイおよびサザエより調製したもので、 α -マンノシダーゼほか約10種の混合である。

0.01~0.1% グリコシダーゼ海水溶液で精子を1分間処理した。このときの精子濃度は原精液の 10^{-3} である。処理後、正常海水中の卵に媒精して受精率を見た。媒精時の精子濃度は 10^{-5} である。

実験の結果、正常海水で稀釈しただけの精子はグリコシダーゼ処理で受精能力が損われないが、卵海水で予め20~30秒処理した精子は、グリコシダーゼ処理により著しく受精能力を失うことがわかった。この場合、卵海水による先体反応の率が高いと、グリコシダーゼによる受精率低下が著しいので、先体反応を起した精子が作用を受けると推論される。これらの実験結果は、用いた4種のウニについて、またグリコシダーゼのホラガイおよびサザエの製剤について同様であった。一方、卵は0.1% グリコシダーゼ海水で1~5分処理しても受精能に影響がなかった。

卵海水処理した精子をグリコシダーゼ処理して電顕観察すると、先体突起周囲の先体物質が損われていることがわかる。前に報告したように、この物質はトリプシンによっても失われる所以、糖蛋白質に関連する物質である可能性が高い。

精子に対するグリコシダーゼの作用については、すでに山本、緋田（1976, 第47回大会）の報告があるが、今回ここに報告した結果とは一致しない点があるので更に実験を重ねたい。

1-メチルアデニンの卵表における作用部位

森沢正昭（東大洋研）、金谷晴夫（基礎生物学研）

Reactive site of 1-methyladenine on the surface of immature oocyte of the starfish (*Asterina pectinifera*)

MASAAKI MORISAWA, HARUO KANATANI

ヒトデ卵成熟は卵胞細胞で合成・分泌される1-メチルアデニン(1-MA)の作用によって誘起されることはよく知られている。卵膜を除去した未成熟卵でも1-MAによって成熟すること、1-MAを未成熟卵内に注射しても無効であることなどから、1-MAは細胞膜に作用すると考えられる。我々は1-MAの作用部位を卵表面から分離・抽出することを試みた。Ca²⁺-free、プロナーゼ処理で卵胞細胞・ゼリーレー層・卵膜を除いたイトマキヒトデの未成熟卵を0.010%以上のTriton X-100(TX)（人工海水溶液）中で10分毎に攪拌しながら60分 incubateした後人工海水で洗うと、卵は1-MAによって成熟しなくなる。但し0.014%以上のTXで処理するとcytolysisしてしまう。この結果は1-MAの作用部位が卵表面からTXによって可溶化され失なわれたことを示していると思われる。次に0.012% TXにより未成熟卵を60分処理し卵表の1-MA作用部位を可溶化した液に1/20量Bio beads SM-2を加え120分攪拌してTXを除去した。この液中で0.010% TX処理で成熟不能になった未熟卵を120分 incubateし、よく洗ってから1-MA液に移すと卵核胞の崩壊がおこり成熟するようになる。この結果はTXによって1-MA作用部位を失なった卵の表面上に、TXによって卵表面から抽出された1-MA作用部位が再構築され、卵が1-MAに対する感受性を再び獲得したことを示していると思われる。この物質は100°C 60分の熱処理、0.010%トリプシン、プロナーゼで37°C 210分処理してもその活性を失なわない。しかし10⁶倍人工海水で一夜透析すると活性は減少する。これらの結果から、得られた1-MA作用部位は熱に安定でタンパク質でない、比較的低分子の物質であろうと考えられる。