

ウニ胚分離細胞の再凝集に対する温度の影響Ⅲ. 再凝集能と胚細胞表面の流動性

藤沢弘介(静岡大・理・生物), 雨宮昭南(東大・理・臨海), 野間口隆(都老人研・生物)

Temperature dependency of reaggregation in embryonic cells of sea urchins Ⅲ. Reaggregation and surface fluidity

HIROSUKE FUJISAWA, SHONAN AMEMIYA, TAKASHI A. NOMAGUCHI

ウニ遊泳胚をCa除去処理することによって得られる分離細胞は正常海水に戻すと再凝集し, 細胞塊はプルテウス様塊までの形態形成を行なう。この現象の適温域を産卵期を異にする4種のウニ, バフンウニ *Hemicentrotus pulcherrimus*, タコノマクラ *Clypeaster japonicus*, ムラサキウニ *Anthodiaris crassispina* およびアカウニ *Pseudocentrotus depressus* について調べたところ, その適温域はそれぞれのウニの産卵期の海水温度にほとんど一致していることが確認できた。すなわちバフンウニでは10—15℃, タコノマクラでは20—30℃, ムラサキウニでは20—25℃, アカウニでは10—20℃である。

この種特異的環境温度依存性の要因の一つとしてウニ胚細胞の膜流動性の相異が考えられる。ジフェニルヘキサトリエンを用いた蛍光偏光解消法によって膜流動性(P値)を測定するとその値は温度に依存して変化し, 低温では高く温度の上昇に伴って低下した。これはまだタコノマクラとムラサキウニについてしか調べていないが, この二種に関しては温度と膜流動性との関係はほぼ一致した。また比較のためヒト繊維芽細胞について同様の関係をみたところ, 各細胞の適温域におけるP値はほぼ等しかった。すなわち上記二種のウニ胚細胞の20—30℃P値とヒト繊維芽細胞の35—40℃におけるP値とが近い値であった。また各種試薬によるP値の変化とウニ胚分離細胞の再凝集・形態形成能への影響をみるとDMSO(1%)やエーテル海水(1%)は再凝集・形態形成能を抑えP値を低めたのに対し, レクチン(PHA-P)は凝集を促進したものの形態形成能を停止させP値を高めた。

バフンウニ胚の孵化酵素阻害因子

中塚光史(名大・理・生物)

The presence of inhibitory factor(s) of hatching enzyme in the sea urchin embryos, *Hemicentrotus pulcherrimus*

MITSUNOBU NAKATSUKA

バフンウニの受精後11時間の胚を細胞分画したところ, 孵化酵素活性の収量は全ホモジネートの約10倍になることは既に報告した。この結果は孵化酵素の阻害因子の存在を示唆する。この阻害因子の確認と若干の性質を調べた。受精後10時間・12時間の胚をホモジネート後500g・10分で遠心し, 核・未破壊細胞を除きさらに10,000g・20分の遠心をかけ上清と顆粒分画とに分けた。両発生時期の各分画を用いて混合実験を行ない酵素活性を比較した。10時間胚の上清分画は10時間・12時間の胚の顆粒分画の酵素活性を阻害した。12時間胚の上清分画は12時間胚の顆粒分画の酵素活性を阻害した。これら上清分画は60℃・10分の熱処理を加えてある。12時間胚の上清分画を熱処理後透析しても酵素阻害効果は変わらず, この阻害因子は非透析性で分子量は1万以上と推定される。受精後12時間の胚の顆粒分画からの粗酵素液量を一定にし, 上清分画の溶液量を増していくにつれて酵素活性は低下していった。海水中に分泌された孵化酵素に対して10時間・12時間の胚の上清分画はともに阻害効果を全く示さず, 阻害因子の作用の特異性を表わし, 細胞内と細胞外の孵化酵素とでは分子の性状が異なる可能性を示唆した。受精後10時間の胚の上清分画を用いて孵化酵素阻害因子の熱安定性を調べた。60℃・10分の熱処理では阻害効果には変化がみられず, 80℃・96℃各10分の熱処理では阻害効果は低下した。上清分画を60℃・10分の熱処理後加水分解酵素を作用させたところ, trypsin処理により阻害効果は低下したが, DNase・RNase処理では影響をうけなかった。この孵化酵素阻害因子は蛋白性と考えられる。