

グルタルアルデヒド固定卵によるウニ精子懸濁液の pH 変化

日野晶也, 中埜栄三 (名大・理・生物)

pH change in the suspension of sperm and glutaraldehyde-fixed eggs

AKIYA HINO, EIZO NAKANO

ウニ精子は、グルタルアルデヒド固定未受精卵によって呼吸阻害と運動阻害を受けることが報告されている (前大会, D.G.D '80, 22)。2mM トリスバッファーを含む海水に精子 ($10^8/\text{ml}$) を懸濁し pH を測定すると緩かだが一定の pH 降下 ($\Delta\text{pH} = 0.02/\text{min}$) があつた (I)。そこに固定卵 ($10^5/\text{ml}$) を加えると、直後に pH が低下し ($\Delta\text{pH} = 0.05$, 30 sec, II) 更に約 15 分間にわたり pH は大きく降下した ($\Delta\text{pH} = 0.3$, III)。1mM NaN_3 , 9.3mM アンチマイシン A 等の呼吸阻害剤の存在下では、(I) の一定の pH 降下はおこらないが、固定卵添加直後の変化 (II) とそれに続く大きな pH 低下 (III) がみられた。卵海水処理後の精子を用いると、(I) と (III) の変化はおこるが、(II) の変化はみられなかった。また、固定受精卵では精子が卵表に付着せず、(I) の変化のみ生じ、(II) と (III) の変化はおこらなかった。固定未受精卵添加後 2 分以内に 85% 以上の精子に先体反応がみられた。

以上のことから、(I) の遊泳中の精子でおこる一定の pH 低下は呼吸によるもの、(II) の固定卵添加直後におこる変化は、卵海水でもおこるので先体反応によるものと考えられる。(I) と (II) の変化量は精子濃度に依存したが、(III) の変化量は固定卵濃度に依存した。また、固定卵の懸濁液に精子懸濁液の上清又は pronase, trypsin の酵素標品を添加すると微かだが有意な pH 低下がみられることから、(III) の変化は精子でなく固定卵由来の変化と考えられる。固定時のグルタル濃度を 0.2% 以下にし、透析によりグルタルを除いた卵を攪拌しても懸濁液の pH は低下した。この懸濁液の上清は、電気泳動法によれば、上述の pronase 処理、精子懸濁液の上清による処理によって得た物質よりは分子量の大きなタンパクを含んでいた。

ニジマス精子の運動は、サイクリック AMP によって開始される。

森沢正昭 (東大・海洋研), 奥野誠 (東大・教養・生物)

Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) induces maturation of rainbow trout sperm axoneme to initiate motility

MASAAKI MORISAWA, MAKOTO OKUNO

Cyclic AMP (cAMP) が精子運動に影響を与えることはよく知られている。しかし、cAMP が精子運動開始に直接拘わるという証拠はない。今回、Gibbons らの方法でニジマス精子を Triton X-100 で処理して原形質膜とミトコンドリアを除き、頭部と鞭毛の運動装置 axoneme だけにした Triton Model (Model) を暗視野顕微鏡で観察し次の知見を得た。1) サケマスの精子は輸精管中で精漿の K^+ で運動を抑制されている (森沢ら)。 K^+ で運動を抑えた状態で精子を Triton 処理して得た MgATP 溶液中で全く動かないが、一旦 cAMP を作用させると MgATP の存在下で $70\text{--}100\mu\text{m}/\text{sec}$ の速さで活発に運動するようになる。即ち、一度も運動した事のない精子の Model (axoneme) は、MgATP によるエネルギーの供給だけでは動けない未成熟状態にあり、cAMP の作用で初めて成熟して動ける様になる。2) 精子運動を抑える K^+ は、精子呼吸は抑えない； K^+ はミトコンドリアの呼吸ではなく、直接鞭毛に働き運動を抑えると思われる。また K^+ は生の精子の運動は抑えるが、Model の運動は抑えない； K^+ は鞭毛の膜に働き運動を止めている。3) 一旦、 K^+ -free の 100mM NaCl の液に懸濁後、Triton で膜を除いた精子の Model は、cAMP が作用せずとも、MgATP だけで動く； K^+ -free により鞭毛内で増加した cAMP が既に axoneme を成熟させていたため、Model は MgATP だけで動くことができたと考えられる。自然では、ニジマス精子は輸精管内で K^+ の鞭毛の膜への抑制作用で停止している。淡水中に放出されると、精子の周囲の K^+ が減少して抑制が解け、鞭毛内で増加した cAMP が運動装置である axoneme を成熟させ、精子は運動を開始すると思われる。