

ウニ卵マイクロゾーム分画による Ca のとりこみ

井上宏子, 吉岡 亨(横浜市大・医・生理)

Calcium uptake activity in sea urchin egg microsome fraction

HIROKO INOUE, TOHRU YOSHIOKA

卵の付活は細胞内フリー Ca 量の増加によるものであり, その Ca は細胞内の Ca ストアから放出されるのであろうということがいわれている。そこで我々は, 筋小胞体 (SR) をとり出すのと同じ方法を用いてウニ卵からマイクロゾーム分画をとり出した。そしてその中に含まれる vesicle の Ca の放出と, とりこみを発光蛋白質である aequorin と光散乱法を用いて調べたところ, A23187 やアンフォテリシン B (AMB) によって Ca の放出がみられたが, ATP による Ca のとりこみは SR とは異なり認められなかった (第51回大会)。そこで ^{45}Ca を用いて測定し直したがやはりこの分画にはほとんど Ca とりこみ能が認められなかった。

ここ数年, 各種の細胞からとり出したマイクロゾーム分画中の vesicle が Ca をとりこむことが報告されている。そこで定法によりマイクロゾーム分画をとり出し, その Ca とりこみ能を調べたところ, ATP 及び oxalate 依存性のとりこみがみられた。しかも受精卵からとり出された分画は, 未受精卵のそれに比べておよそ7倍のとりこみ能の上昇を示した。そしてその Ca とりこみの K_m 値と V_{max} 値を求めたところ, K_m 値は未受精卵からの分画と受精卵からのそれとはともに約 $30\mu\text{M}$ であったが, V_{max} 値は受精卵からの分画が未受精卵からのに較べて約10倍であった。また予め, ^{45}Ca をとりこませておいたこの vesicle にいろいろな人工付活剤を加えて Ca の放出をみたところ, A23187 とチモールにより急速な放出が観測された。AMB と人工付活剤ではないが, チモールとともに SR から Ca を放出させる薬剤として知られているカフェインは, ゆっくりとした放出をみせた。

Ca イオノフォアによる カエル卵表層反応——付活電位発生と表層粒崩壊との関係について

岩尾康宏(山口大・理・生物)

Cortical reactions of frog eggs by Ca-ionophore
YASUHIRO IWAO

無尾両生類, ヒキガエル (*Bufo bufo*) では, 卵成熟中の第1極体放出期頃から, 受精又はprickingに対し, 付活電位の発生, 伝播的表層粒崩壊, 囲卵腔の形成等の表層反応が成立するようになる。これらの反応における Ca イオンの役割を知るために, プロゲステロン処理による *in vitro* で成熟中の卵の Ca イオノフォア A23187 に対する反応を調べた。

成熟未受精卵では, $1\mu\text{M}$ A23187 によって受精やprickingと同様に, 1/20 De Boer 液中で+70mV程の付活電位が発生し, 表層粒も完全に崩壊した。表層粒は卵成熟に伴い A23187 に対する感受性を増し, 9hr post hormone treatment; PHT では, $1\mu\text{M}$ A23187 で完全に崩壊した。これはprickingによる伝播的崩壊反応の成立より4~5時間早い。付活電位は, この処理で表層粒が完全に崩壊した9hr PHT の卵でも発生せず, 10hr PHT 以後になって初めて出現した。しかし, その振幅は小さく(+40mV程), 第1極体放出期(14hr PHT頃)になって成熟卵と同等の電位発生がみられた。これらは表層粒崩壊に加えて付活電位発生も Ca イオンによって直接に引き起こされ, 付活電位の発生は, 表層粒崩壊に直接媒介されてはいない可能性を示唆している。成熟卵におけるprickingによる表層粒崩壊の伝播速度は, 植物半球のほうが動物半球より遅く, 完全な崩壊には約150秒かかった。未熟卵(14hr PHT)では, 極めて遅く約10分かかって完全に崩壊した。未熟卵では, 受精またはprickingによる付活電位の発生も不完全であり, これらから受精に伴う卵内 Ca イオンの上昇が不十分であることが, 未熟卵における多精現象を引き起こしている可能性が考えられる。